

**Aktivitätsmessungen der sauren
Erythrozytenphosphatase mit einer neu
entwickelten Standardmethode**

Konrad Berg

1973

Aus dem Institut für Anthropologie und Humangenetik
der Universität München

Aktivitätsmessungen der sauren Erythrozytenphosphatase
mit einer neu entwickelten Standardmethode.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Biologischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Konrad Berg
aus Eltville

München 1973

1. Berichterstatter: Prof. Dr.Dr. Schwarzfischer
2. Berichterstatter: Prof. Dr.Dr. Ziegmayer
Tag der Promotion: 30.10.1973



INHALT.

Literaturübersicht	S. 2-12
Methoden, Material und Versuchsbeschreibung	S. 13-17
Vorversuche: Enzymkinetik	S. 18
Temperatur- und pH-Abhängigkeit	S. 21
Alterungsbedingte Veränderungen	S. 33
Reinenversuch der Aktivitätsbestimmung bei pH 5,4 und 6,0 mit statistischer Auswertung.	S.37
Prüfung der Relation zwischen Hb/Vol und Aktivität/Vol.	S. 56
Der Phänotyp C.	S. 60
Diskussion	S. 78
Zusammenfassung	S. 81
Literatur	S. 82-87

Tabelle I.	S.20	Abbildung 1	S.19
II.	S.25	2	S.24
III.	S.26	3(a-e)	S.28-32
IV.	S.27	4	S.35
Va S.66, Vb S.67		5	S.36
VI.	S.52	6(a-e)	S.40-44
VII.	S.44	7(a-e)	S.47-51
VIII.	S.58 und 59	8	S.54 und 55
IX.	S.61	9	S.57
		10	S.62-65

Einzelwerte der Versuchsreihen S. 68-77



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Literaturübersicht

Das hier behandelte Enzym trägt nach der neuen Enzymnomenklatur der International Union of Biochemistry den systematischen Codenamen EC 3.1.3.2. Der deutsche Trivialname lautet nach Vorkommen, Funktion und pH-Optimum "saure Erythrocytenphosphatase." Sie katalysiert eine hydrolytische Spaltung von Phosphatmonoestern und besteht bei jedem Phänotyp aus mehreren Isozymen, die vor allem für die elektrophoretische Differenzierung der Phänotypen Bedeutung haben.

Frühere Untersuchungen

Die Existenz einer Phosphomonoesterase und Phosphohydrolase mit niedrigem pH-Optimum stellte als Erster Behrendt (1943) in den Erythrocyten fest.

Sowohl in der Substratspezifität als auch in der Hemmbarkeit durch verschiedene Substanzen war die "saure Erythrocytenphosphatase" von der Prostataphosphatase mit alkalischem pH-Optimum zu unterscheiden. (Abul Fadl u. King 1949) Die gleichen Autoren fanden in den Erythrocyten zwei Phosphatasen mit verschiedenen pH-Optima (4,3-4,8 und 5,0-5,7).

Eine Phosphotransferaseaktivität des Enzyms wurde von Tsuboi u. Hudson (1953) festgestellt. Sie fanden auch schon deutliche interindividuelle Schwankungen der pH-Optima.

Enzympolymorphismus

Hopkinson et al (1963) beschrieben zuerst einen genetisch bestimmten Polymorphismus der sauren Erythrocytenphosphatase. Sie fanden bei Stärkegelelektrophorese von Hämoly-
saten 5 verschiedene Isozymmuster und sagten nach der von ihnen postulierten Erbgangshypothese die Existenz eines seltenen 6. Phänotyps voraus.

Die Phänotypen werden durch drei häufige allele Gene P^a , P^b und P^c in freier Kombination bestimmt, so daß die homozygoten Phänotypen A,B,C und die heterozygoten Phänotypen AB, BC und AC entstehen. Dabei entsprechen die Elektrophoresemuster der heterozygoten Typen einer einfachen Mischung der entsprechenden homozygoten Komponenten. Diese Hypothese des Erbgangs wird durch eine Reihe von Untersuchungen in den verschiedensten Populationen gut gesichert: Dürwald und Hunger (1967) Fiedler (1967), Giblett und Scott (1965), Goedde et al (1966), Harris (1966) Hopkinson et al (1963) Hopkinson et al (1964), Krüger et al (1968), Lai et al (1964), Prokop (1967), Speiser und Pausch (1967).

Hopkinson et al (1963) benutzten als Substrat zum Nachweis der Spots Phenolphthaleindiphosphat, da sie mit den sonst üblichen Phosphatasesubstraten - und -Naphthylphosphat keine Aktivität feststellen konnten. Auch das verwendete Puffersystem mit Tris-Bernsteinsäure im Gel und Zitronensäure-Natrium-hydroxyd als Brückenpuffer bei pH 5,0 war ungewöhnlich.

Nach der grundlegenden Arbeit von Hopkinson et al. (1963) gehörte die saure Erythrocytenphosphatase zu den genetisch

bestimmten Enzym polymorphismen mit besonderer Bedeutung als Forschungsobjekt für die Populationsgenetik wie für Biochemie und Molekulargenetik. Von praktischer Bedeutung ist sie in der forensischen Medizin (Fiedler(1967)).

Weitere Untersuchungen führten zu interessanten Einzelheiten, ohne daß bisher die Primärstruktur oder die genaue Rolle im physiologischen Stoffwechsel aufgeklärt wären.

Über die Korrelation der genetischen Merkmalgruppe der sauren Erythrocytenphosphatase zu anderen Blutgruppensystemen liegen nur wenige Ergebnisse vor.

Coneally et al (1965) fand keinen Zusammenhang mit den Serumproteinpolymorphismen Gm, Gc und Inv. Nguyen van Cong und Moulllec (1971) beobachteten eine deutliche statistische Signifikanz für Linkage der Loci für saure Phosphatase mit dem Lewis-System.

Physikalisch-chemische Eigenschaften

In der Enzymologie gilt weitgehend, daß die Normalwerte nur für eine bestimmte Methode Gültigkeit haben. (Weber und Wegmann 1968). Auch bei der sauren Erythrozytenphosphatase zeigte sich, daß die qualitativen und quantitativen Eigenschaften stark von der Untersuchungsmethode abhängig waren.

Soerensen (1970) fand, daß - Naphthylphosphat doch als Substrat geeignet war, wenn eine "post-coupling" Technik angewendet wurde und so die Hemmwirkung des Diazosalzes auf das Enzym umgangen wurde. Er beobachtete wesentlich kompliziertere Elektrophoresemuster der einzelnen Phänotypen, während Hopkins et al (1963, 1964) für jedes Allel nur zwei Isozyme nachweisen konnten. Die Verwendung von Phenolphthaleindiphosphat als Substrat ist jedoch die gebräuchliche Methode geblieben, weil sie durch klarere Elektrophoresemuster und günstigere Verteilung der Spots eine bessere Unterscheidung der Phänotypen ermöglicht. und weniger aufwendig ist.

Die relative und absolute Wanderungsgeschwindigkeit der Typ A Isozyme war stark abhängig vom verwendeten Puffersystem, bzw. von verschiedenen Zusätzen (Luffmann u. Harris (1968).

Bei der Untersuchung der Enzymaktivität der einzelnen Phänotypen durch Spencer et al (1964) zeigte sich, daß die drei mitwirkenden Allele verschiedene quantitative Effekte haben, die auf einfache Art addiert werden. An Hand der Aktivitäten lassen sich die Phänotypen jedoch nicht unterscheiden, da die interindividuelle Variation so groß ist, daß sich die Verteilungskurven der einzelnen Phänotypen überschneiden und für die Gesamtpopulation Phänotypen überschneiden und für die Gesamtpopulation eine eingipflige Kurve entsteht. Bei den Aktivitätstests erwies sich p-Nitrophenylphosphat als das geeignetste Substrat. Luffmann und Harris (1967) testeten eine Serie von Substraten, die alle weniger hydrolysiert wurden als PNPP.

Zwischen den einzelnen Phänotypen fand sich in Bezug auf Substratspezifität kein Unterschied.

Scott (1966) stellte gereinigte Enzympräparationen der Typen A und B mit DEAE-Cellulose chromatographie her und fand bei einer Reihe von getesteten Substraten, daß die Aktivität auf molarer Basis gleich war. Beim Typ A war die Aktivität bei Anwesenheit von Citratpuffer erhöht (Luffman und Harris (1968). Beim Typ B fand sich eine geringere Hemmung durch anorganisches Phosphat und weniger Abhängigkeit von der Substratkonzentration (Scott 1966). Fischer und Harris (1971) fanden bei Untersuchung der einzelnen Isozyme, daß jeweils das schneller wandernde eine höhere pH-Optimum und eine höhere K_m für PNPP hat.

Die Phosphotransferaseaktivität wurde von Luffman und Harris (1967) mit verschiedenen Alkoholen als Akzeptor getestet, wobei im Hinblick auf die geringe Versuchszahl zwischen den Phänotypen kein statistisch signifikanter Unterschied zu finden war. Die Phosphotransferaseaktivität wurde in Prozent der hydrolytischen Aktivität angegeben.

Bei der Untersuchung der Thermostabilität durch Luffman und Harris (1967) und später durch McAlpine et al (1970), Fischer und Harris (1971) zeigte sich nicht nur eine etwas unterschiedliche Stabilität der 5 häufigen Phänotypen, die in der Reihenfolge A, AB, B, BC, AC, zunahm, sondern vor allem beim Typ B schien es so, als würde bei Hitzeeinwirkung das schnellere Isozym in das langsamere umgewandelt. Während nämlich mit zunehmender Dauer der Hitzeesposition die schnellere Bande verblaßte, wurde die langsamere zunächst intensiver, bevor sie auch inaktiv wurde.

Bei allen Typen war das schneller wandernde Isozym thermolabiler. Hier findet sich ein erster Hinweis darauf, daß die Isozyme eine einander sehr ähnliche Primärstruktur haben und leicht ineinander übergehen können. Fischer und Harris (1971) fanden beim Typ A bei Elektrophoresen von rein dargestellten Isozymen, daß sie nach längerer Lagerung eine Beimengung des zugehörigen Isozympartners enthielten und schließen auch auf eng verwandte Strukturen. Fischer und Harris (1971) vermuten, daß die verschiedenen Eigenschaften der Polypeptidkette durch sekundäre Veränderungen des Enzymproteins nach der Synthese an den Ribosomen oder durch verschiedene Polysaccharid- oder Lipidbindungen verursacht sein könnten. Ebenso wird vermutet, daß sich die Isozyme bei gleicher Primärstruktur in ihrer tertiären oder quaternären Struktur unterscheiden.

Eine andere Möglichkeit wäre, daß die verschiedenen Glieder eine Isozymgruppe verschiedene Grade der Polymerisierung einer Basiseinheit darstellen. Für die letzte Vermutung spricht auch, daß Spencer (1964) bei der Untersuchung der Aktivität, die den einzelnen Genen zuzuordnen ist, ein einfaches Verhältnis fand, in dem die Aktivitäten von P^a , P^b , P^c , sich nahezu wie 2 : 3 : 4 verhielten.

Jedenfalls scheint die freie Energiedifferenz der verschiedenen Zustandsformen klein genug zu sein, um eine leichte Umwandlung ineinander zu erlauben.

Von Luffman und Harris (1967) wurde zuerst eine Schätzung des Molekulargewichts mit Hilfe von Gelfiltration versucht.

Hierbei zeigte sich bei den 5 häufigen Phänotypen jeweils nur ein Peak mit Phosphataseaktivität, was für etwa gleiches Molekulargewicht der Isozyme spricht. An Hand der mitlaufenden Proteinmarkierungen wurde das Molekulargewicht auf 7-10.000 geschätzt.

Von Fischer und Harris (1971) wurde mit einer Methode, die sich hauptsächlich durch vorherige Denaturierung des Enzyms mit Guanidin von der vorher genannten unterschied, ein MG von 14.800 geschätzt. Auch hier bestand zwischen den Isozymen der 5 häufigen Phänotypen keine Differenz. Das unterschiedliche Ergebnis beider Methoden dürfte durch einen besonderen Adsorptions- oder Ladungszustand oder durch die Tertiärstruktur des Enzyms bedingt sein. Auch ist ungeklärt, wie weit das Enzym schon durch die komplizierte Darstellungsmethode nach Fischer et al (1968) verändert war.

Weitere Hinweise auf Struktureinheiten sind bis jetzt spärlich vorhanden.

Valentine et al (1961) fanden eine fast völlige Hemmung des Enzyms durch Kupfersalze und p-Chloromercuribenzoat, was auf die Mitwirkung von Sulfhydrylgruppen bei der Enzymfunktion schließen läßt.

Luffman und Harris (1968) fanden, daß die A Isozyme auf die Gegenwart von bestimmten organischen Säuren, besonders Citronensäure, anders reagieren als die B und C Isozyme.

Ergebnisse der Ionenaustauschchromatographie

Die Reindarstellung der Isozyme ist inzwischen mehrfach gelungen, wobei verschiedene Methoden der Ionenaustauschchromatographie angewandt wurden.

Angletti und Gayle (1962) verwendeten Blut von unbekanntem Phänotyp und fanden mit DEAE Cellulosesäulen mit Citratpuffer bei pH 4,8 drei Peaks von Phosphataseaktivität mit verschiedenen enzymatischen Eigenschaften besonders in Bezug auf pH-Optimum und Hemmbarkeit durch Na-Tartrat. Bei Peak I fällt beim Vergleich mit späteren Ergebnissen auf, daß er durch Na-Tartrat signifikant gehemmt wird.

Georgatsos (1965) verwendete Säulen aus dem Dextranpolymerisat Sephadex G 75 mit Ammoniumazetatpuffer pH 5,5. Der Phänotyp der getesteten Hämolysate wurde nicht bestimmt. Es fanden sich Enzympeaks mit unterschiedlichem Verhalten gegenüber der Zugabe von Mg^{++} -Ionen. Das schnellere Enzym E_1 wurde durch Mg^{++} -Ionen aktiviert, während das langsamere durch Mg^{++} -Ionen gehemmt wurde. Auch die Reaktion auf EDTA, Fluorid- und Formaldehydzugabe war unterschiedlich.

Luffman und Harris (1967) verwendeten Polyacrylamidgel (Biogel P 60) und Trispuffer pH 6,0. Dabei fand sich nur ein Hauptgipfel mit saurer Phosphataseaktivität. Wenn jedoch der Versuch unter Zugabe von Mg^{++} -Ionen ausgeführt wurde, fand sich ein zweiter Peak, der bei pH 7,4 auf mehr als dreifache Aktivität gegenüber der bei pH 6,0 anstieg.

Dieses neue Enzym entspricht keiner bisher bekannten sauren Erythrocytenphosphatase und wandert bei der Stärkegelelektrophorese wesentlich schneller als die Isozyme der hier besprochenen Phänotypen. Bei den 5 häufigen Phänotypen wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden.

Fenton und Richardson (1967) fanden mit DEAE Sephadex A 50 Chromatographie der Typen B, AB, AC und BC je drei unterscheidbare Faktionen E_s , E_i und E_f mit verschiedenen pH-Optima und Hemmreaktionen. Tartrat hemmte keines der Isozyme, Magnesiumchlorid steigerte in niedriger Konzentration die Aktivität von E_f , Oxalat und EDTA hemmten nur E_s .

Fischer und Harris (1971) trennten die Isozyme der Typen A und B. Sie fanden, daß die A-Isozyme nicht wie die V-Isozyme mit CM-Cellulosesäulen getrennt werden konnten. Die A-Isozymen konnten nur mit DEAE-Cellulosesäulen getrennt werden. Die pH-Optima der gefundenen Isozyme zeigt Tabelle III. Das anodennähere Isozym hatte in jedem Fall ein höheres pH-Optimum und eine niedrigere K_m für PNPP. Es war auch thermolabiler. Hemmtests wurden hier nicht durchgeführt.

S e l t e n e G e n e

Außer den von Hopkinson et al. (1963) getrennten 5 Phänotypen und dem von ihnen vorausgesagten seltenen 6. Phänotyp C, der bald darauf von Lai et al (1964) und Spencer et al (1964) gefunden wurde, hat man inzwischen noch drei andere Allele entdeckt.

Das Gen P^r wurde nur in heterozygoter Kombination als Typ RA und RB in Negerpopulationen gefunden (Giblett und Scott (1965)).

Das Gen P^d wurde ebenfalls nur heterozygot gefunden in Negerpopulationen (Karp und Sutton 1967) sowie Thais (Chandanayingyong 1967).

Diese Phänotypen waren nur mit anderen Puffersystemen, als bis dahin üblich, sicher zu differenzieren.

R lieferte das schnellste Isozym von allen bis dahin getesteten und bei D wanderten die Isozyme Kathodenwärts. Ein weiteres sogenanntes stummes Allel, das keinen Aktivitätseffekt hatte, wurde von Herbig 1969 gefunden und P^o genannt.

Bei den jeweiligen Trägern wurde keine Stoffwechselveränderung von Krankheitswert gefunden.

Da P^o nicht homozygot gefunden wurde, ist über evtl. pathologische Auswirkungen eines völligen Fehlens von saurer Erythrocytenphosphatase nichts bekannt.

Das Allel P^o kann mit der Stärkegelelektrophorese allein nicht nachgewiesen werden, weil dort das kombinierte Allel P^a , P^b oder P^c das Elektrophoresemuster bestimmt. Zum sicheren Ausschluß von P^o muß daher die Aktivitätsbestimmung herangezogen werden.

Pathologie

Auch die Untersuchung pathologischer Fälle konnte bisher zur Klärung der genauen physiologischen Funktion der sauren Erythrocytenphosphatase nichts Wesentliches beitragen.

Valentine et al (1961) und Hopkinson et al (1964) fanden bei Megaloblastenanaemie deutlich erhöhte Phosphataseaktivität aller Phänotypen.

Oski et al (1963) stellten beim kaukasischen Typ des G6PD-Mangels eine deutliche erniedrigte Aktivität fest, die bei Negern mit einer leichteren Form des G6PD-Mangels nicht bestand.

Möglicherweise hängt der Aktivitätsabfall mit dem bei dieser Krankheit in höhere Konzentration vorhandenen oxydierten Glutathion zusammen, von dem Bottini und Modiano (1964) zeigten, daß es sowohl die Phosphataseaktivität als auch die Elektrophoresemuster beeinflusst.

M e t h o d e n

I. Bereitung des Hämolysates

Es wurde frisches Blut von Blutspendern untersucht, das ohne Zusatz abgenommen wurde.

Zu Beginn der Versuchsreihe wurde 6 bis 18 Stunden nach Entnahme die Aktivität der sauren Erythrocytenphosphatase bestimmt und erst anschließend die Bestimmung des Phänotyps mit der Stärkegelelektrophorese ausgeführt.

Als dann die häufigen Typen in genügend großer Zahl untersucht waren, ging der Aktivitätsbestimmung die Untersuchung des Phänotyps voraus, um vor allem die seltenen Phänotypen auszulesen.

In dieser Phase der Versuchsreihe wurde also die Aktivität bei 30 bis 36 Stunden vorher entnommenen Blutproben bestimmt. Hämolysat für die Aktivitätsbestimmung wurde unmittelbar davor bereitet.

Zunächst wurde das geronnene Vollblut drei Mal in physiologischer NaCl-Lösung gewaschen. Beim ersten Mal wurde ein relativ großes Volumen NaCl-Lösung verwendet und nach 5 Minuten Stehen vorsichtig die Suspension von Erythrocyten abgegossen, um die Verfälschung des Ergebnisses durch Erythrocytenklumpen zu vermeiden. Nach jedem Waschen wurde 5 Minuten bei 1800 U/Min. zentrifugiert.

Anschließend wurden die Erythrocyten mit einem 5fachen Volumen Aqua dest. hämolysiert. Das Stroma wurde durch Zentrifugieren (10Min. bei 3000 U/Min.) von der Lösung getrennt.

Wenn gewaschene Erythrocyten für die Elektrophorese verwendet werden sollten, wurden sie bei -25°C eingefroren und durch langsames Auftauen bei $+4^{\circ}\text{C}$ hämolytisiert.

II. Stärkegelelektrophorese

Hier wurde der nach Gußmann (1969) modifizierte Apparat von Radam und Strauch (1966) verwendet.

Die wesentliche Veränderung besteht in der Ersetzung des Platindrahtes durch ein Platinband, welches die Überbrückung einer längeren Strecke ohne wesentlichen Spannungsabfall erlaubt. Auf diese Art konnten 20 Proben gleichzeitig untersucht werden.

Außerdem werden die Brücken einzeln aufgestellt und der Gelbehälter dazwischen aufgehängt, was eine bessere Kühlung ergibt.

Verwendete Lösungen

Anodenpuffer: 625 ml Aquadest,
26,2 g Trinatriumcitrat--2-Hydrat
21,5 g Natriumdihydrogenphosphat-2-Hydrat
1,15 g Titriplex III
pH 5,92

Kathodenpuffer = Anodenpuffer 1 : 3 verdünnt
Substratlösung 600 ml Aquadest
1,7861 g Citronensäure
9,2535 g Trinatriumcitrat-2-Hydrat
3,0 g Phenolphthaleindiphosphat
-Na₅ -Salz
pH 5,48

III. Herstellung des Stärkegels

3,1 ml des Anodenpuffers werden in 88 ml Aqua dest. gelöst und darin 55 g Stärke angerührt. Dazu werden 356 ml kochendes Aqua dest. unter ständigem Rühren gegeben. Die Lösung muß dünnflüssige Konsistenz haben; mit der Wasserstrahlpumpe werden Luftblasen abgesaugt.

Anschließend wird die Lösung in die vorbereiteten Gelformen gegossen.

Die Gelhöhe beträgt 5 mm.

Um das Austrocknen zu vermeiden wird das Gel nach dem Abkühlen mit einer Plastikfolie abgedeckt, die bereits mit Impflöchern versehen ist. Die Ränder werden mit Paraffin abgedichtet.

Frühestens zwei Stunden nach dem Gießen werden 3 x 3 mm große Blättchen Whatman Nr. 17 Filterpapiere mit Hämolysat getränkt und in das Gel eingesetzt. Die Elektrophorese lief bei $+4^{\circ}\text{C}$ und 200 Volt (d.h. ca. 7 Volt/cm) 18-20 Stunden lang.

Anschließend wurde das Gel mit Filterpapier bedeckt, das mit der Substratlösung getränkt war. Nach 4-stündigem Bebrüten bei 37°C wurde das Gel mit 0,5 normaler NaOH-Lösung übergossen und nach der Anfärbung mit Leitungswasser abgespült.

IV. Spektrophotometrische Bestimmung der Enzymaktivität.

Folgende Apparate wurden verwendet:

1. Spektralphotometer PMQ II der Firma Zeiss mit Küvetten aus optischem Spezialglas; Schichtdicke 1 cm.
Bei günstigen Betriebsbedingungen liegt der Ablesefehler unter 0,5 %. Um die durch Spannungsschwankungen bedingten größeren Meßfehler zu vermeiden, war das Gerät direkt an eine 16 A Sicherung angeschlossen.
2. Industriestoppuhr der Firma Junghans.
3. Einhängethermostat ED Unitherm der Firma Gebr. Haake mit Temperaturbereich von 0 bis 150° C bei Temperaturkonstanz von $\pm 0,02^\circ$ C.
4. Ein Wasserbad mit 10 l Volumen bei einem Durchfluß des Thermostaten von 20 l/Min.
5. Für Volumina bis zu 1,0 ml wurden Eppendorf-Pipetten verwendet. Sie haben bei 0,005 ml einen absoluten Fehler von 2 %, bei 0,01 ml und darüber nur noch 1 %. Für größere Volumina wurden geeichte Glaspipetten verwendet.

Verwendete Lösungen.

0,1 M Citronensäure/Trinatriumcitratpuffer
bei pH 5,4 bzw. 6,0

0,01 M p-Nitrophenylphosphat in Citratpuffer
(als Dinatrium Salz

0,5 n NaOH

10%ige Trichloressigsäure.

Sämtliche Chemikalien wurden in p.a. Qualität von der Firma Merck bezogen.

Ablauf des Versuchs

In Zentrifugengläsern wurde je 1 ml Substratlösung von pH 5,4 bzw. 6,0 im Wasserbad auf 25° C erwärmt. Zu jedem Testansatz wurden 50 Hämolysat gegeben, zum Leerwert die gleiche Menge Aqua dest. Die Mischung wurde geschüttelt und 60 Minuten inkubiert.

Anschließend wurde die Reaktion sofort durch je 2 ml 10%ige TCE gestoppt. Es folgten 10 Min. Kältebad zur Abkühlung auf +4° C, dann wurde bei 3000 rpm 10 Minuten zentrifugiert und der Überstand in Reagenzgläser gegossen.

Unmittelbar vor dem Messen der Extinction wurden 12 ml 0,5 n NaOH zugegeben, da das freigesetzte p-Nitrophenol nur im alkalischen Bereich gelb gefärbt ist.

Gemessen wurde bei 405 nm, Bandbreite ± 1 nm, Schichtdicke 1 cm.

Alle Messungen wurden doppelt vorgenommen.

Enzymkinetik und Bestimmung des absoluten
Fehlers der Meßmethode.

Fenton und Richardson (1967) hatten bei 37° C einen linearen Verlauf der Enzymkinetik bis über 1 Stunde festgestellt.

Diese Untersuchung wurde hier noch einmal bei 25° C für die 5 häufigen Typen wiederholt. Bei der hier angewandten indirekten Aktivitätsbestimmung durch die Ein-Punkt-Methode ist ein exakt linearer Reaktionsverlauf notwendig (Lowry 46, Bergmayer 1970), der hier über 70 Minuten nachgewiesen werden konnte. (s. Abb. 1). Für die Reaktionszeit und beide pH-Werte der vorgesehenen Aktivitätstests ergab sich damit ein sicherer linearer Verlauf.

Beim Phänotyp AB wurde die Versuchsreihe 5 mal mit dem selben Hämolysat angesetzt, um den absoluten Fehler festzustellen, soweit er auf Pipettieren und Messen zurückzuführen war. Der hohe absolute Fehler jeweils zu Beginn der Reaktion beruht auf der zunächst niedrigen Extinktion. Die Einzelnen Werte zeigt Tabelle I.

Die Substratlösung wurde als mögliche Fehlerquelle ebenfalls untersucht. Sie war bei pH 6,0 labiler als bei pH 5,4 und zeigte in jedem Fall nach 48 Stunden eine signifikante Änderung der Extinktion.

In frischem Zustand, so wie sie verwendet wurde, ergab die Substratlösung bei pH 6,0 und 5,4 gleiche Werte.

Die gesamte Versuchsanordnung wurde mit Kartoffelphosphatase bekannter Aktivität getestet.

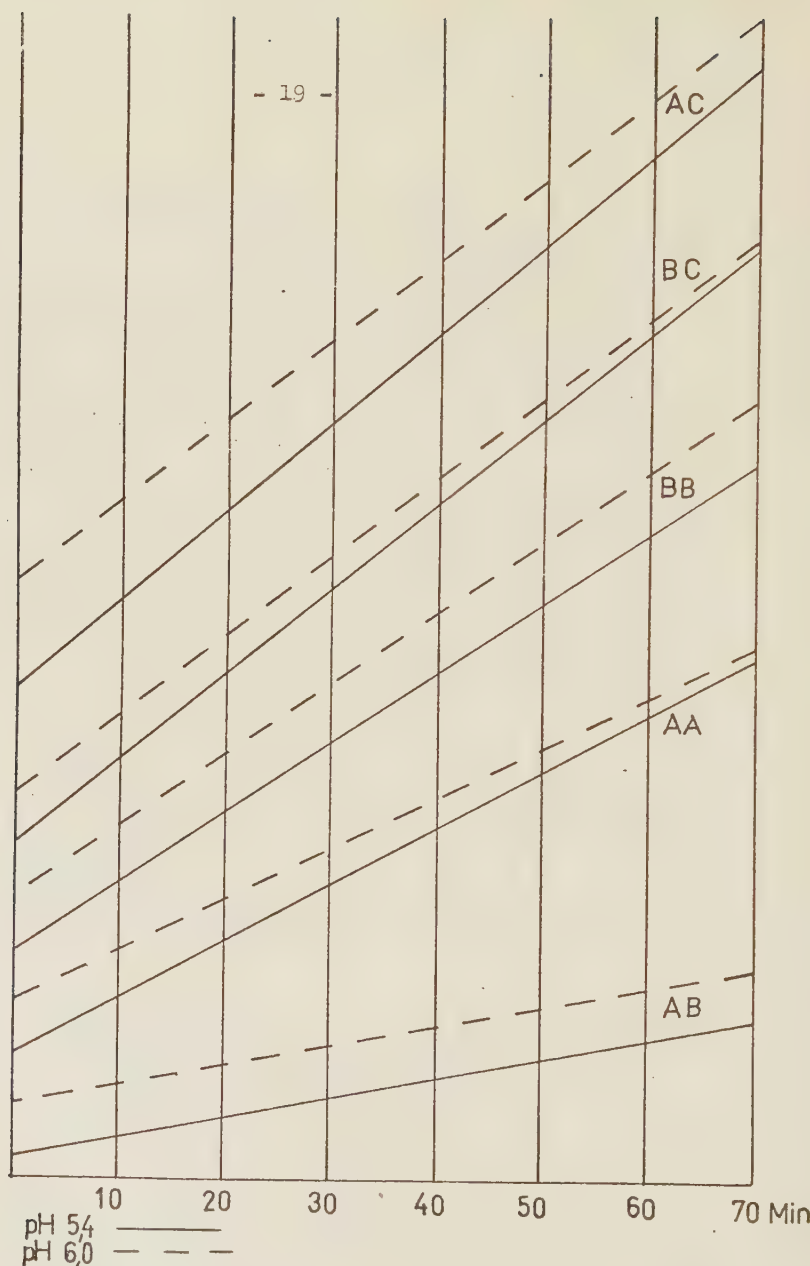


Abb.1. Linearität der Enzymreaktion über 70 Min.
Die einzelnen Phänotypen wurden mit verschiedenen
Ausgangsbasen (jeweils Null) dargestellt.

TABELLE I. Linearität der Enzymreaktion (s. Abb. 1.)
gleichzeitig Bestimmung der Fehlerbreite.

AB, pH 5,4						$\bar{x}$	Fehler %	
10'	0,017	0,016	0,016	0,016	0,015	0,016	±	6,25 %
	0,014	0,018	0,018	0,015	0,015			
20'	0,038	0,036	0,036	0,038	0,036	0,0367	±	3,54 %
	0,037	0,036	0,036	0,038	0,036			
30'	0,057	0,058	0,056	0,059	0,058	0,058	±	1,72 %
	0,059	0,058	0,058	0,059	0,058			
40'	0,072	0,072	0,07	0,073	0,072	0,0725	±	2,07 %
	0,073	0,076	0,073	0,071	0,073			
50'	0,097	0,097	0,097	0,095	0,096	0,0963	±	1,87 %
	0,097	0,098	0,096	0,094	0,096			
60'	0,114	0,117	0,114	0,116	0,115	0,1145	±	1,31 %
	0,113	0,118	0,113	0,115	0,113			
70'	0,133	0,135	0,138	0,136	0,136	0,1354	±	1,92 %
	0,133	0,135	0,138	0,136	0,134			
AB, pH 6,0							±	Fehler %
10'	0,012	0,011	0,010	0,011	0,014	0,012	±	16,6 %
	0,013	0,011	0,011	0,013	0,014			
20'	0,037	0,036	0,034	0,037	0,036	0,0366	±	7,1 %
	0,038	0,039	0,034	0,039	0,036			
30'	0,065	0,067	0,067	0,069	0,066	0,0671	±	3,13 %
	0,065	0,069	0,066	0,068	0,069			
40'	0,078	0,075	0,074	0,074	0,07	0,0734	±	3,54 %
	0,074	0,072	0,072	0,072	0,073			
50'	0,096	0,095	0,096	0,095	0,096	0,0953	±	0,84 %
	0,096	0,094	0,096	0,094	0,095			
60'	0,112	0,114	0,114	0,113	0,118	0,1152	±	1,997 %
	0,115	0,116	0,115	0,116	0,117			
70'	0,135	0,133	0,132	0,135	0,133	0,1334	±	1,95 %
	0,132	0,132	0,130	0,137	0,135			

Hemmtests wurden jeweils mit 10mM Substratlösung ausgeführt. Bei einer Formaldehydkonzentration von 0,343mM ergab sich eine Hemmung von 95,84 %; bei Formaldehyd 0,686mM war das Enzym zu 97,86 % gehemmt.

Temperatur und pH-Abhängigkeit

Üblicherweise wird die Enzymkinetik jeweils in dem Temperaturbereich untersucht, in dem die Aktivität des Enzyms die geringsten temperaturabhängigen Schwankungen zeigt. Bei 37° C ergibt eine Schwankung um 1° C eine Veränderung der Aktivität des Phänotyps B um ca. 5,5 %, während die Aktivitätsänderung bei 25° C weniger als 3 % beträgt.

Zur Verdeutlichung zeigt Abb. 2 das Verhalten der Aktivität bei verschiedenen Temperaturen für die 5 häufigen Phänotypen, wobei im fraglichen Bereich alle Kurven parallel verlaufen.

Nach Bergmeyer (1979) besteht für die Serumphosphatasen eine gesetzmäßige Beziehung zwischen Aktivität und Temperatur. Die für 25° gemessenen Werte wurden danach auf 37° C umgerechnet und mit den bei 37° gemessenen Werte verglichen.

(s. Tabelle II) Es ergab sich im Rahmen der Fehlergrenze zum Teil sehr gute Übereinstimmung. Die Werte anderer Autoren wurden in der entsprechenden pH-Rubrik zum Vergleich angegeben.

Insgesamt kann man danach annehmen, daß die gesetzmäßige Beziehung, welche Bergmeyer für Serumphosphatasen angibt, auch für die getestete Erythrocytenphosphatase Geltung hat.

Da die Literaturangaben zum pH-Optimum des Enzyms bzw. seiner Isozyme stark differieren und offensichtlich methodenabhängig sind, wurde für die häufigen Phänotypen die Aktivität zwischen pH 5,1 und 6,3 untersucht.

Angaben anderer Autoren zeigt Tabelle III. Dazu ist noch zu bemerken, daß das pH-Optimum sich mit der Substratkonzentration verändert (Fisher und Harris (1971) (Tabelle S. 443)).

Von den häufigen Phänotypen wurden jeweils 5 Proben untersucht. Da die individuellen Unterschiede auffällig groß waren, werden in den Abb. 3a,b,c,d,e keine Mittelwerte, sondern die Einzelkurven gezeigt.

Jeweils 4 Proben wurden unmittelbar nach der elektrophoretischen Typenbestimmung, d.h. 28^h nach der Blutentnahme, untersucht. Die in den Abb. 3 extra bezeichnete fünfte Probe wurde immer mit 24 Stunden älterem Hämolysat ausgeführt.

Diese Untersuchung sollte nur einen groben Überblick über die Aktivität der häufigen Phänotypen im vorgesehen Meßbereich liefern. Die Fehlerbreite dürfte hier ähnlich wie bei der Linearitätsuntersuchung sein, so daß tatsächlich eine große individuelle Verschiedenheit der pH-Optima innerhalb der Phänotypen anzunehmen ist.

Da die Isozyme nicht getrennt untersucht wurden, hat man sich vorzustellen, daß der Kurvenverlauf durch die Optima der einzelnen Isozyme bestimmt wird. Daher wurden auch keine Kurven konstruiert, sondern die Meßpunkte durch Gerade verbunden. Die einzelnen Isozyme, welche die Gestalt der pH-Profile bewirken sind unterschiedlich stabil und können, wie in der Literatur erwähnt, leicht ineinander übergehen (Fisher und Harris (1971)), wodurch dann die Form der pH-Profile verändert wird.

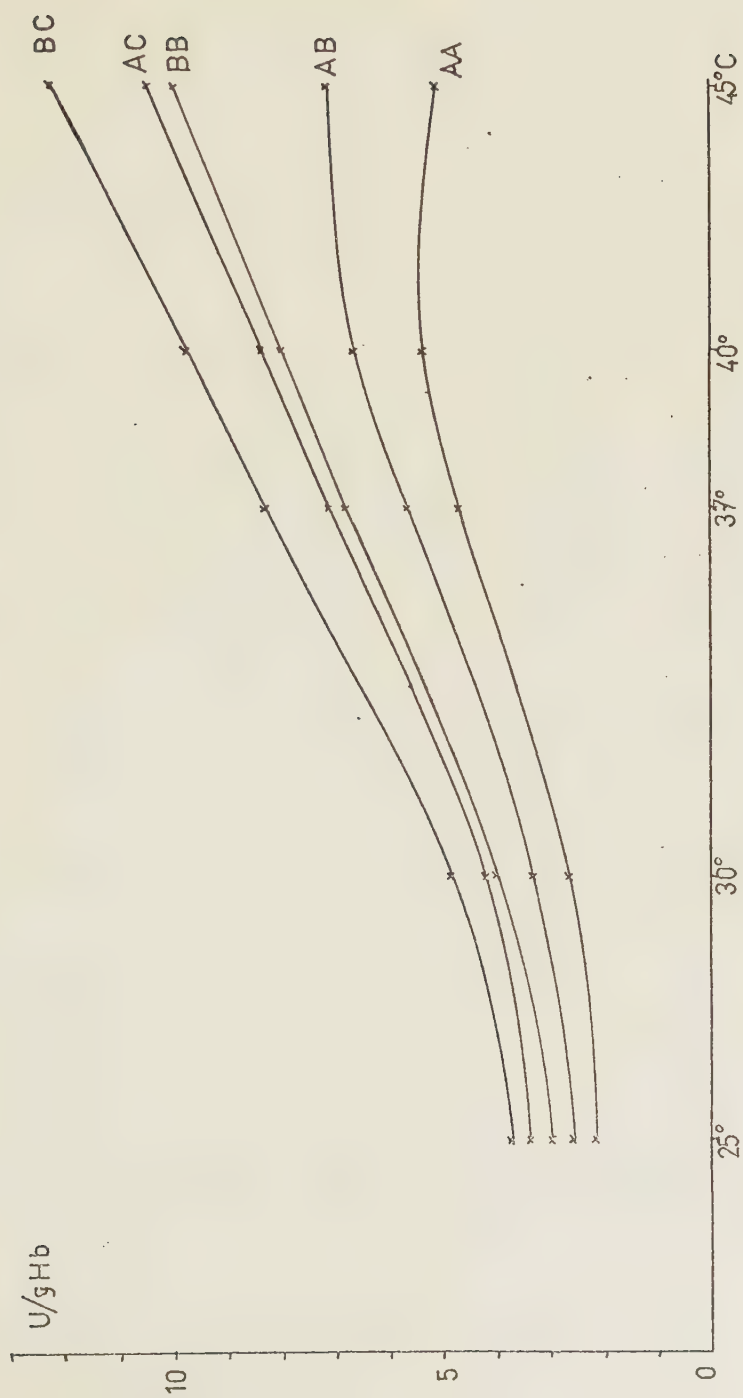


Abb. 2. Temperaturabhängigkeit der Enzymreaktion; nach der Zulassungsarbeit von H. Reiser (1972).

Tabelle II. Temperaturabhängigkeit des Enzyms

AC	BC	AB	AA	BB	
n=53	n=54	n=102	n=95	n=93	
102,88	112,94	79,29	66,91	89,65	bei 25° gemessen
214,34	235,3	165,2	139,4	186,77	nach Bergmeyer für 37° errechnet pH 5,4
n=20	n=20	n=50	n=40	n=30	
212,94	251,67	170,1	135,7	208,7	bei 37° gemessen
n=53	n=54	n=102	n=95	n=93	
99,46	109,57	80,12	65,51	93,100	bei 37° gemessen
207,21	228,27	166,91	136,43	195,97	nach Bergmeyer für 37° errechnet
—	—	175,0	150,0	220,0	nach Goedde et al. (1968) 37° pH 6,0
n=11	n=16	n=126	n=93	n=61	
103,0	212,2	153,9	122,4	100,43	nach Spender et al. (1964) 37°
n=9	n=22	n=48	n=16	n=75	
174,0	192,2	142,6	123,3	162,7	nach Modiano et al. (1967) 37°

die Aktivität ist angegeben in Units/gHb, 30Min

Tabelle III. pH-Optima anderer Autoren.

Autor	pH-Optima	Methode.(Substrat ist immer p-Nitro-phenylphosphat)	
Fisher & Harris (1971)	Frisch:	18h alt:	getrennte Isozyme,
	b ₁ 5,2	5,2 (5,8)	37°C; 0,01M Substrat
	b ₂ 5,8	5,8(5,2)	tris-Citratpuffer 0,03M
	a ₁ 4,6 (5,7) a ₂ 5,8 (4,8)		Abstand der meßpunkte 0,5pH
Fenton u. Menarison (1967)		E _S 4,25 E _I 5,25 E _{II} 5,75	37°C; 30µM Substrat; Citratpuffer 0,5M
			Abstand der Meßpunkte 0,25pH
Georgatzos (1965)		E ₁ 5,0 und 6,0 E ₂ 5,2	37°C; 0,001M Substrat; 0,5M Ammonium=
			acetatpuffer; Abstand 0,25-0,5 pH
Anjletti & Gayle (1962)	Peak	1 4,4 2 5,6 3 5,6	p-NPP unbek. Molarität; Citratpuffer
			keine weiteren Angaben.

Tabelle IV.

pH-Profile der 5 häufigen Phänotypen.

pH:	5,1	5,48	5,72	6,02	6,3
A	1,915	1,909	2,134	1,803	1,734
	1,859	2,002	2,043	1,931	1,859
	1,989	2,040	2,100	2,005	1,961
	1,825	1,905	1,865	1,995	1,855
	1,312 alt	1,484	1,490	1,367	1,406
$\bar{x}$	1,78	1,868	1,9264	1,8202	1,763
B	2,065	2,121	2,093	2,247	2,188
	2,714	3,020	2,64	2,799	2,510
	2,267	2,37	2,383	2,446	2,255
	2,58	2,766	2,682	2,683	2,674
	2,52	2,61	2,595	2,806	2,660
	1,824 alt	1,92	1,966	1,927	1,807
$\bar{x}$	2,43	2,58	2,48	2,5962	2,4574
AB	2,3980	2,400	2,450	2,364	2,270
	2,2264	2,320	2,270	2,330	2,141
	2,3570	2,420	2,412	2,405	2,357
	2,2800	2,381	2,352	2,420	2,326
	1,9270 alt	2,107	2,128	1,967	1,947
$\bar{x}$	2,2376	2,323	2,3224	2,2975	2,208
$\frac{\bar{x}_A + \bar{x}_B}{2}$	2,105	2,224	2,2032	2,2082	2,1602
AC	3,035	3,4930	3,250	3,179	2,971
	3,080	3,1790	2,961	2,803	2,684
	2,361	2,3860	2,852	2,965	2,632
	3,256	3,3270	3,288	3,035	2,959
	2,783 alt	3,8495	2,843	2,618	2,526
$\bar{x}$	2,9	3,24	3,04	2,94	2,76
BC	3,640	3,940	3,830	3,580	3,643
	3,360	3,616	3,460	3,310	3,200
	3,110	3,320	3,220	3,108	3,035
	3,580	3,814	3,688	3,580	3,550
	3,202 alt	3,433	3,176	2,972	2,961
$\bar{x}$	3,378	3,62	3,48	3,51	3,49

Abb.3. pH -Profile von Einzelproben
(a-e)

o-----o = Mittelwerte aller Proben des jeweiligen
Phänotyps.

Abb.3a.

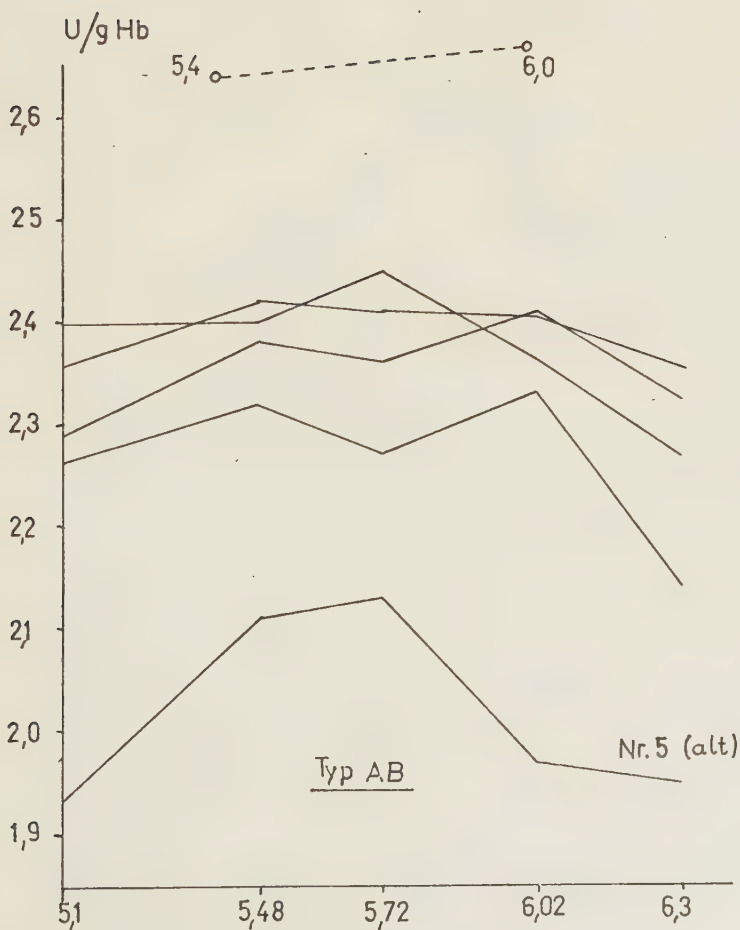


Abb. 3b.

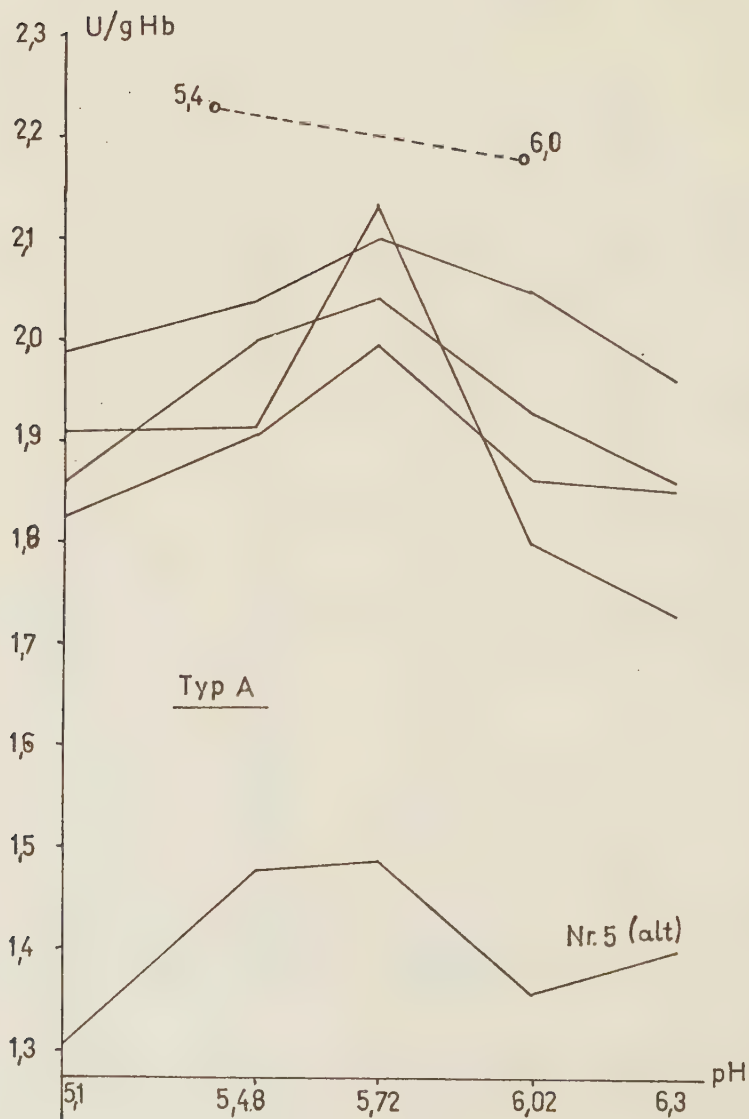


Abb. 5c.

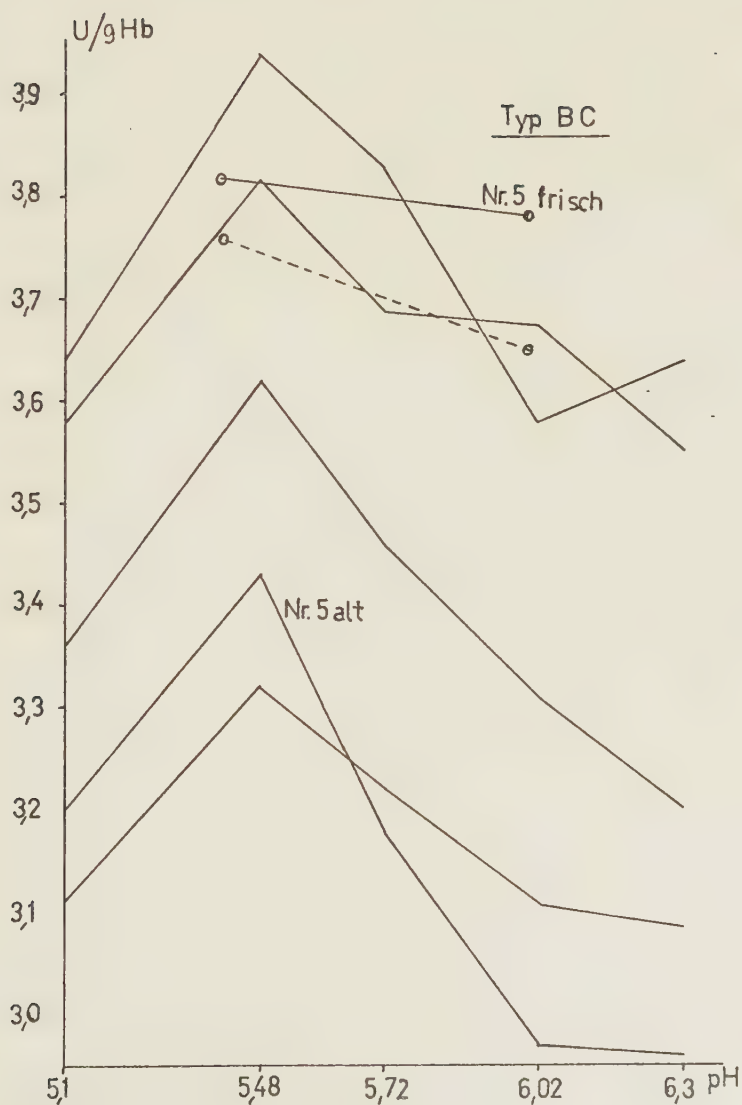
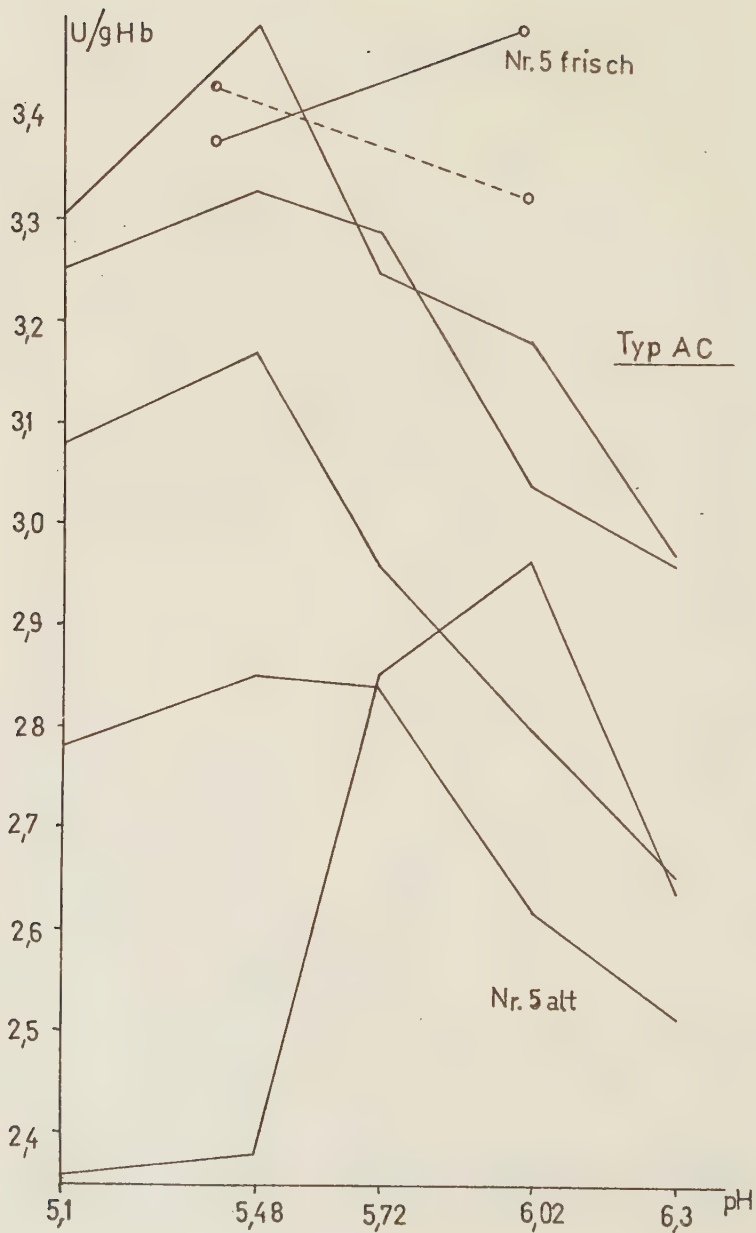
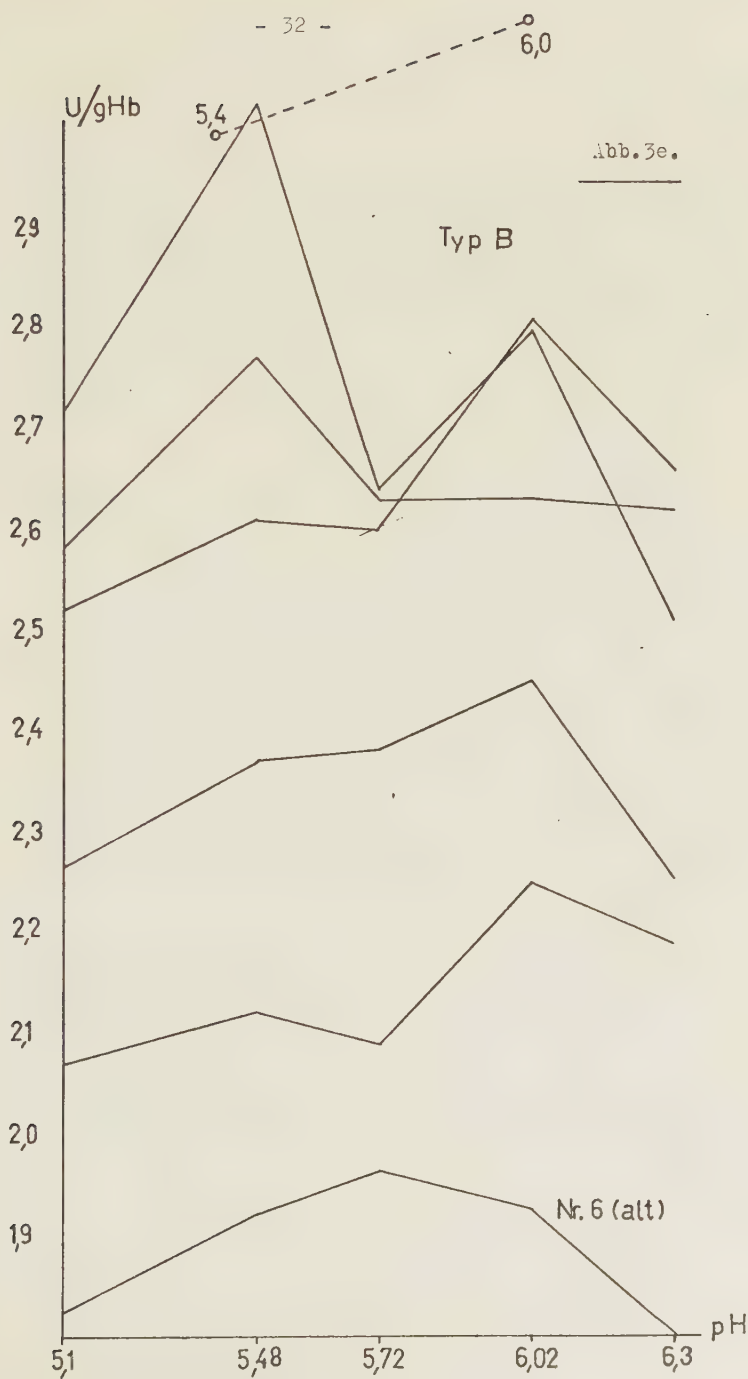


Abb. 3d.





Alterungsbedingte Veränderungen.

Auch durch Alterung bedingte Veränderungen der Aktivität wurden vor dem Reihenversuch untersucht, da ja mit verschieden alten Proben gearbeitet werden sollte. Es wurden je 3-5 Proben der häufigen Phänotypen bei pH 5,4 untersucht. Beim Hämolytat betrug in der Regel der Aktivitätsverlust nach 24 Stunden 50 % mit einer Variationsbreite von 80 % - 20 %.

Bei Vollblut, das bei $+4^{\circ}$ C gelagert wurde, fanden sich überraschenderweise nach 7 Tagen noch 10% $\pm$ Fehlerbreite der Anfangsaktivität, ausgenommen die Fälle, bei denen das Blut hämolytisch war.

In der 2. Woche war der Aktivitätsverlust individuell sehr unterschiedlich, ohne daß statistisch signifikante Typeneigenarten hervortraten.

In der 3. Woche betrug die Aktivität im Allgemeinen weniger als 50 %, jedoch gab es Einzelfälle, bei denen der Aktivitätsrückgang die Fehlerbreite des Anfangswertes nicht übertraf.

Tsuboi und Hudson (1953) fanden sogar in manchen Fällen eine signifikant gesteigerte Aktivität nach 24-stündiger Lagerung von rohem Hämolytat bei 0° C.

Weitere Aussagen zur Veränderung der Aktivität mit der Alterung ergaben sich bei der Auswertung der Versuchsreihe, die bei pH 5,4 und 6,0 ausgeführt wurden.

Die Veränderung im Einzelnen zeigt Abb. 4.

Offensichtlich sind in den verwendeten pH-Bereichen verschiedene Isozyme aktiv, die auf Alterung verschieden stark reagieren. Luffman und Harris (1967) sowie Fisher und Harris (1971) beobachteten auch, daß die isolierten Isozyme der Typen A und B sich ineinander umwandeln können.

Die Verhältnisse beim Phänotyp A, wie sie Abb. 4 zeigt, sind aber damit allein nicht zu erklären, da ja bei beiden pH-Werten mit der Alterung eine statistisch signifikante Steigerung der Aktivität eintritt.

Eine Deutungsmöglichkeit wäre die Annahme einer Hemmreaktion, welche die alterungsbedingte Abnahme der eigentlichen Enzymreaktion kompensiert bzw. überkompensiert.

In Bezug auf Aktivität und Elektrophoresemuster scheint die Regel zu gelten, daß die Mischphänotypen die addierten Eigenschaften der jeweiligen homocygoten Typen haben. (Spencer et al, 1964)

Die in Abb. 4 gezeigten Eigenarten der Alterungsveränderung halten sich nicht an diese Regel. Am deutlichsten zeigt dies der Phänotyp AB. Die Eigenart des Typ A mit der Alterung an Aktivität zuzunehmen, kommt beim Typ AB nicht zum Ausdruck; im Gegenteil wird die entgegengesetzte Typ B Eigenart noch übertroffen.

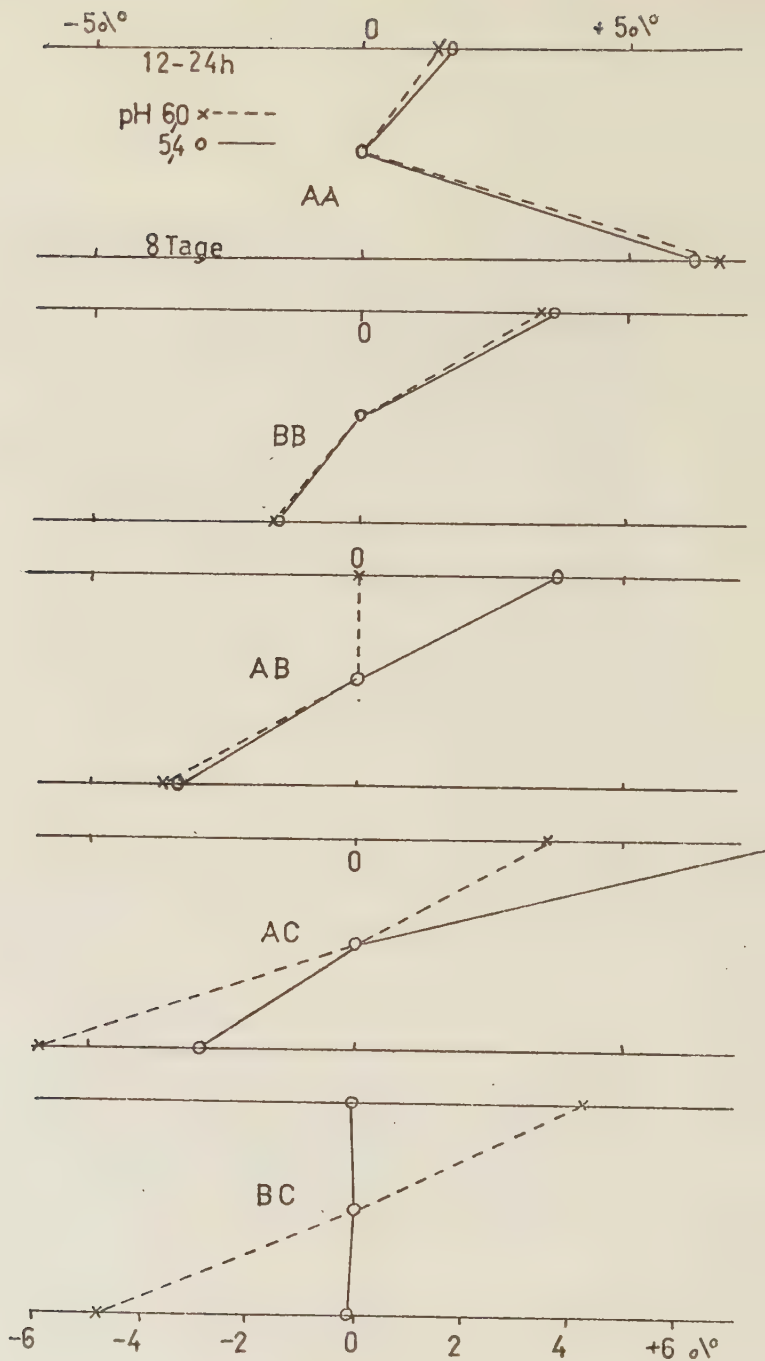


Abb. 4. Veränderung der Mittelwerte bei pH 5,4 und 6,0 nach verschieden langer Lagerung.

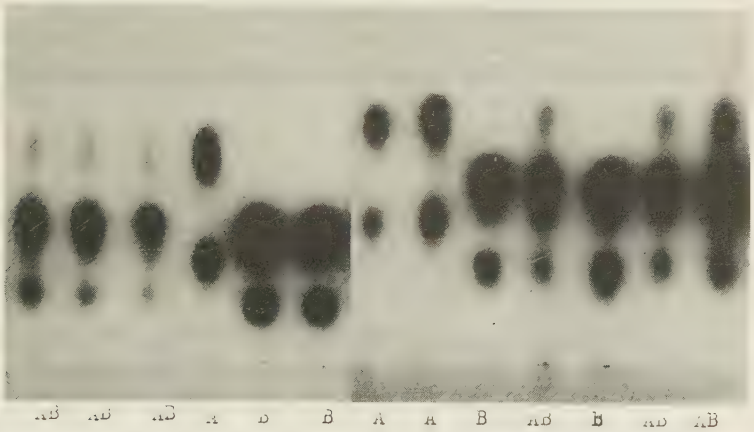
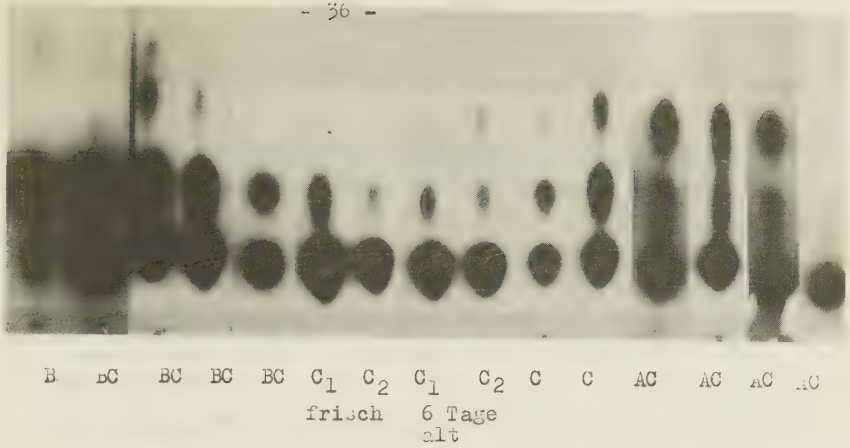


Abb.5. Elektrophoresemuster aus verschiedenen
Stärkegels nach dem Fotografieren zusammengestellt.
Daher z.T. unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit.
Relation der Spotgrößen streng genommen nur innerhalb
einer Probe vergleichbar, da eingesetzte HämolySATmenge
methodisch bedingt nicht absolut gleich.

Die Alterung verändert neben der Aktivität auch die Elektrophoresemuster der Phänotypen.

Nach Fisher und Harris (1971) entwickeln die Enzyme aller Phänotypen bei der Lagerung schneller wandernde Komponenten. Daß sich die Isozyme der Phänotypen A und B leicht ineinander umwandeln, wurde bereits erwähnt. Die alterungsbedingte Veränderung der Elektrophoresemuster erschwert vor allem die Differenzierung der Typen AC, BC und C, weil sich die Relation der charakteristischen Spots verändert.

Abbildung 5 demonstriert die Variabilität der Elektrophoresemuster.

Reihenversuch der Aktivitätsbestimmung bei pH 5,4 und 6,0 mit statistischer Auswertung.

Zur übersichtlichen Darstellung der Verteilung der Aktivität bei den 5 häufigen Typen wurden jeweils Gruppen von 0,1 - 0,2 U/gHbMin. gebildet, wie aus den Diagrammen Abb. 6, a-e, zu ersehen ist.

Für jeden Phänotyp wurde der Anteil der einzelnen Gruppen in Prozent der Gesamtzahl von Meßwerten errechnet und in ein Wahrscheinlichkeitsnetz eingezeichnet.

Die im Wahrscheinlichkeitsnetz erhaltenen Mittelwerte und Standardabweichungen stimmen geringfügig nicht mit den errechneten überein; d.h. das Häufigkeitsmaximum der Verteilungskurve entspricht nicht dem arithmetischen Mittelwert. Die gleichen Verhältnisse bei allerdings geringerer Fallzahl finden sich in der bekannten Arbeit von Spencer, Hopkinson und Harris (1964).

Neben der gewöhnlichen Gauß'schen Normalverteilung ist in der Physiologie häufig, die logarithmische Normalverteilung anzutreffen, was dadurch zu erklären ist, daß ein bestimmter Grenz- oder Schwellenwert nach einer Richtung hin nicht überschritten wird. Auf beide Verteilungsarten wurde geprüft.

Auf das Vorliegen einer Normalverteilung wurde mit dem χ^2 -Anpassungstest geprüft.

Hypothese H_1 : Die Stichprobe stammt aus der empirisch ermittelten Normalverteilung $F_1(x)$.

Gegenhypothese H_2 : Die Stichprobe stammt nicht aus der bekannten Verteilung $F_1(x)$.

Die statistische Sicherheit gegen das Verwerfen der Hypothese H_1 wird mit $s=1-\alpha$ bezeichnet.

α ist die Wahrscheinlichkeit, daß die Hypothese verworfen wird, obwohl sie richtig ist. Für diesen Fall wurde (wie üblich) eine Wahrscheinlichkeit von $\alpha = 5\%$ angesetzt.

Voraussetzung:

Es liegt eine stetige Verteilung mit Einteilung in k Klassen vor.

n_j = gefundene Besetzungszahl der Klasse j aus der Stichprobe.

h_j = Besetzungszahl der Klasse j die bei Gültigkeit von H_1 zu erwarten ist.

Für $k > 2$ müssen h_j größer als 1 sein; es dürfen höchstens 20 % der h_j kleiner als 5 sein.

Die Hypothese H_1 wird verworfen für

$$\sum_{j=1}^k \frac{(n_j - h_j)^2}{h_j} > \chi^2_{1-\alpha; f} \quad f = k - 1 - \alpha$$

Prüfgröße

$$\chi^2_0 = \sum_{j=1}^k \frac{(n_j - h_j)^2}{h_j}$$

$\chi^2_{1-\alpha; f}$; f ist der Schwellenwert der χ^2 -Verteilung zur Wahrscheinlichkeit $1-\alpha$ in Abhängigkeit vom Freiheitsgrad f .

a ist die Zahl der unbekannten Parameter der Verteilung $F_1(x)$, die mit Hilfe der Stichprobe geschätzt worden sind. In diesem Fall $a = 2$, und zwar $\bar{X}$ und s^2 (Mittelwert und Varianz).

Abb.6a. Verteilung der Aktivitätsgruppen bei
pH 5,4 und 6,0..

Typ BC

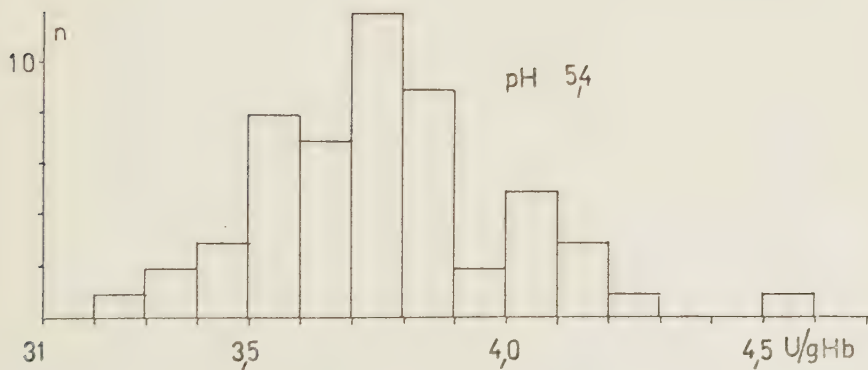
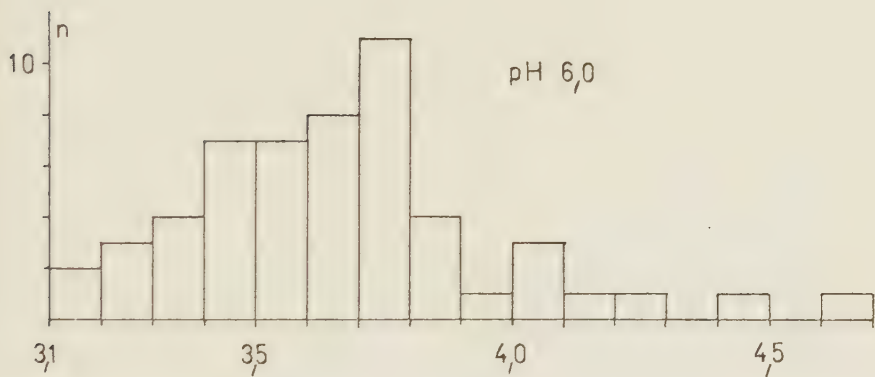


Abb. 6b.

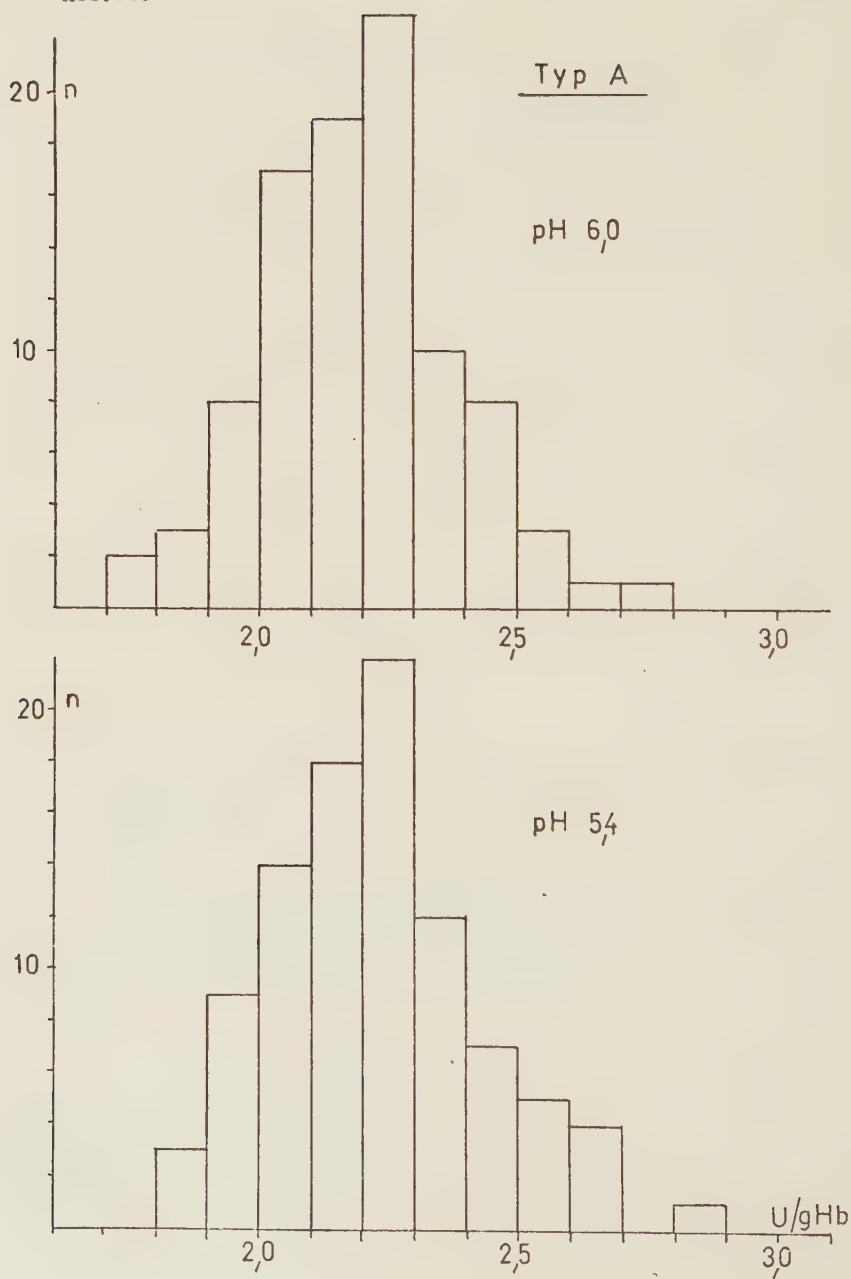


Abb. 66.

n

pH 6,0

Typ AB

10

20

21

25

30

34

n

pH 5,4

10

20

21

25

30

34

U/gHb

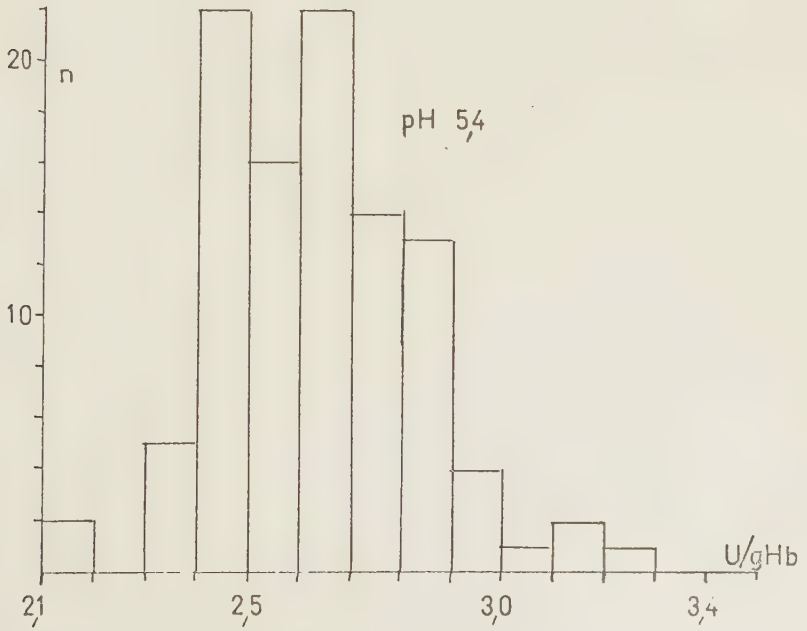
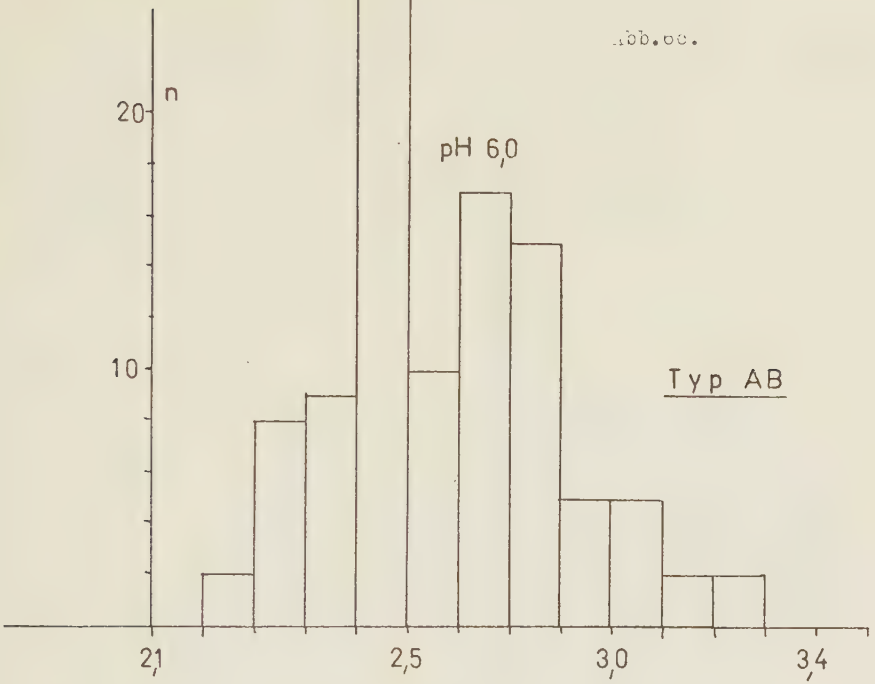


Abb. 6d.

Typ AC

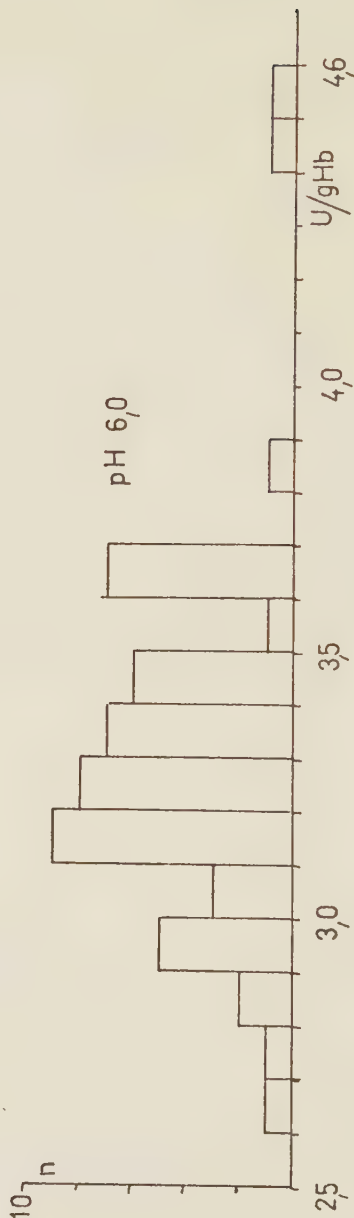
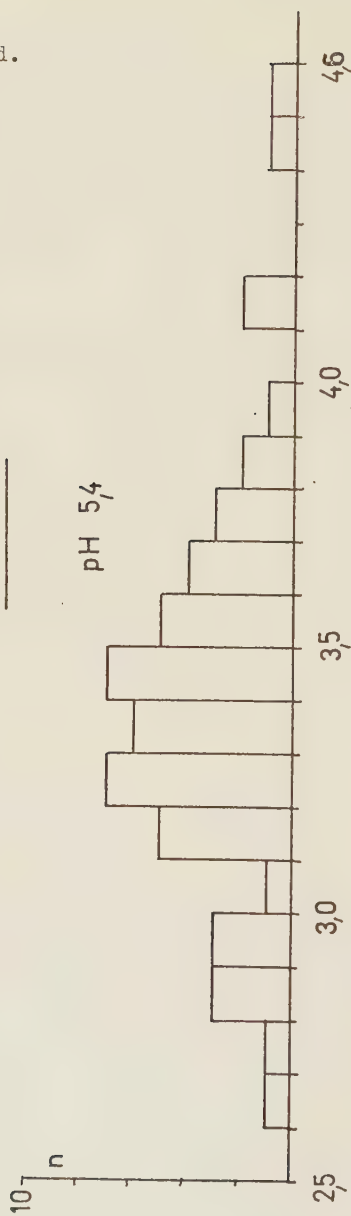
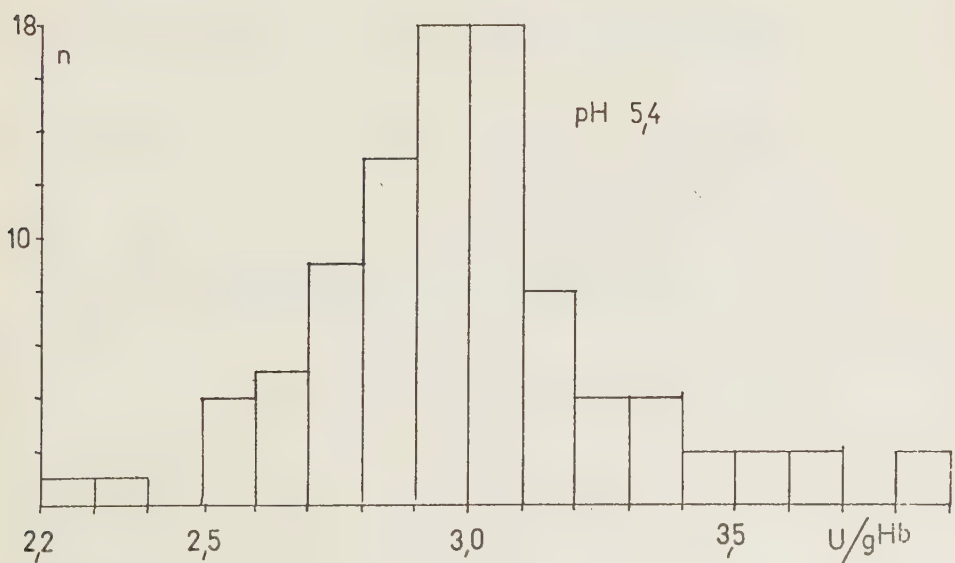
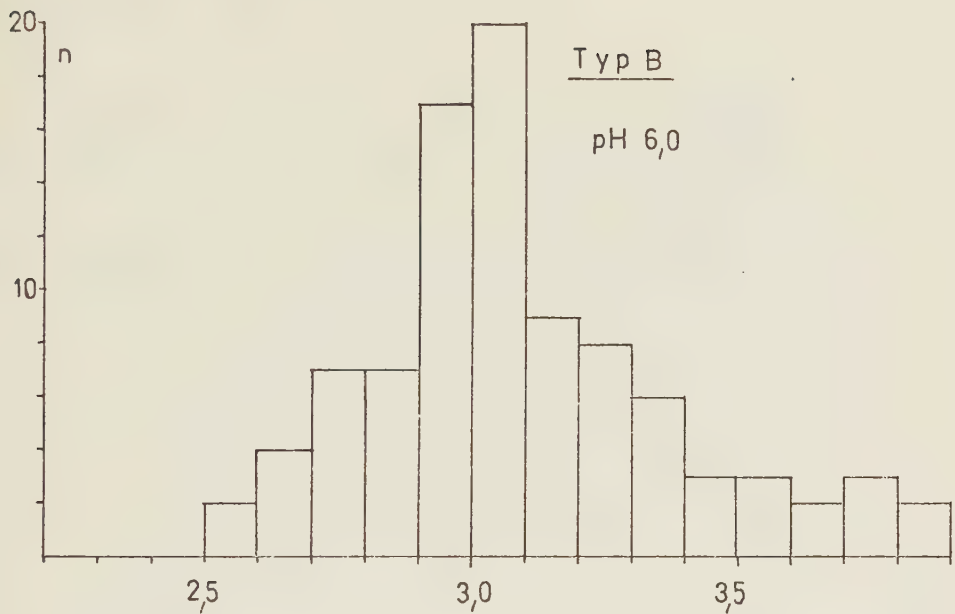


Abb. 6e.



Wie aus der Tabelle (Va u. b) zu entnehmen ist, ergibt sich keine ausreichende Übereinstimmung für die errechneten Mittelwerte und Varianzen, während für die dem Wahrscheinlichkeitsnetz entnommenen Mittelwerte und Varianzen die Hypothese H_1 angenommen werden kann.

Als Ergebnis kann damit angenommen werden, daß es sich bei allen Phänotypen um eine angenäherte Normalverteilung handelt.

Die zusätzlich vorgenommene Prüfung auf logarithmische Verteilung ergab keine Übereinstimmung.

Da zeichnerisch zwischen den Verteilungen bei pH 5,4 und 6,0 analoge Verhältnisse bestanden, wurde diese genaue Berechnung nur für pH 5,4 vorgenommen.

Der qualitative und quantitative Zusammenhang der Meßergebnisse bei beiden pH-Werten wurde für alle Typen untersucht.

Dazu wurden im Koordinatensystem die Werte für pH 6,0 auf der Ordinate und die zugehörigen Werte für pH 5,4 auf der Abszisse aufgetragen.

Aus den Punkten wurde mit dem Computer die zugehörige Regressionsgerade berechnet. Die Korrelationskoeffizienten betragen ca. 0,8, was eine gute Korrelation bedeutet.

Siehe Abbildung Nr. 7.(a-e)

Weiterhin wurde geprüft, ob sich die Mittelwerte für die Phänotypen bei beiden pH-Werten signifikant unterscheiden.

Die Einzelwerte x_{i1} und x_{i2} ($i=1, 2, \dots, n$) beider Stichproben gleichen Umfangs gehören (aus sachlichen Gründen) paarweise zusammen.

Die Differenz eines Wertepaares i -ist $d = x_{i1} - x_{i2}$

Der Mittelwert der Differenzen $\bar{d}_i = \bar{x}_1 - \bar{x}_2$

Die Varianz der n Differenz d_i ist

$$s_d^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (d_i - \bar{d})^2$$

Zweiseitiger Test: Man testet die Hypothese $E(d_i) = 0$ (Erwartungswert von d_i ($\mu_1 = \mu_2$) gegen die Gegenhypothese $E(d_i) \neq 0$ ($\mu_1 \neq \mu_2$) mit der statistischen Sicherheit $S = 1 - \alpha$; in diesem Fall $\alpha = 0,05$, d.h. $\alpha = 5\%$.

Die Prüfgröße für diesen Test ist $t_o = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s_d} \sqrt{n}$

Die Hypothese $E(d_i) = 0$ ($\mu_1 = \mu_2$) wird verworfen für

$$t_o > t_{1 - \left(\frac{\alpha}{2}\right)_f} \quad (f = n-1)$$

$t_{1 - \frac{\alpha}{2}} f$ ist der Schwellenwert der t-Verteilung zur statistischen Sicherheit.

$S = 1 - \alpha$ (bei zweiseitiger Abgrenzung) mit f Freiheitsgraden.

Abb.7a. Regressionsgerade, welche die Beziehung zwischen den Aktivitäten bei pH 5,4 und pH 6,0 zeigt. Hier für Phänotyp A.

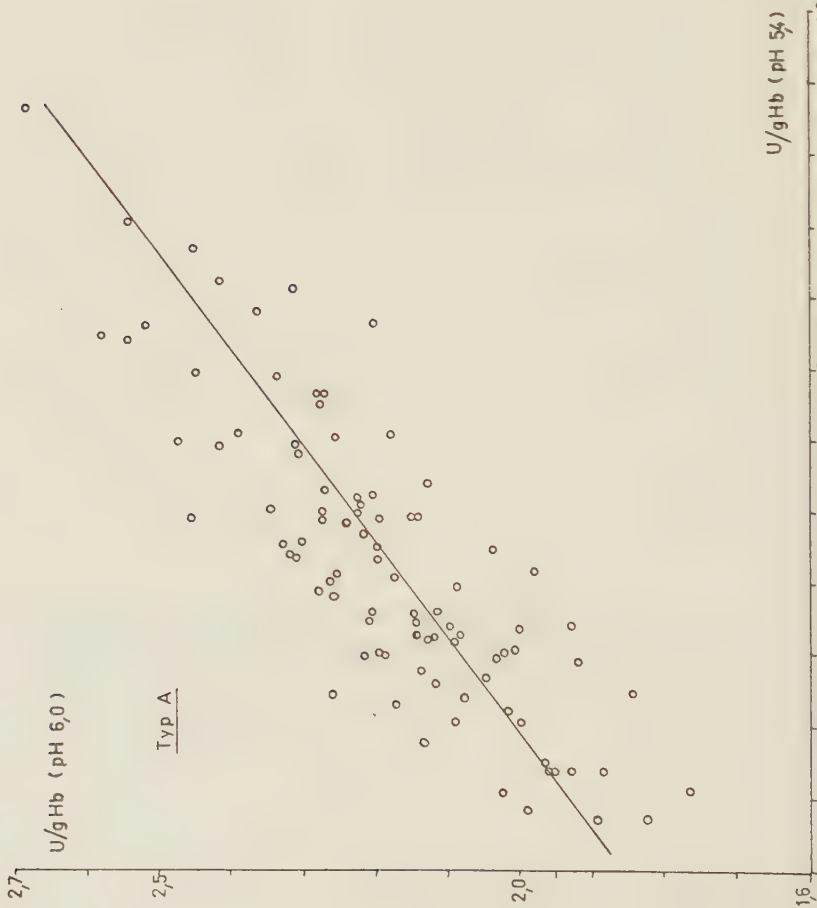


Abb. 7b. Regressionsgerade pH 5,4/6,0.

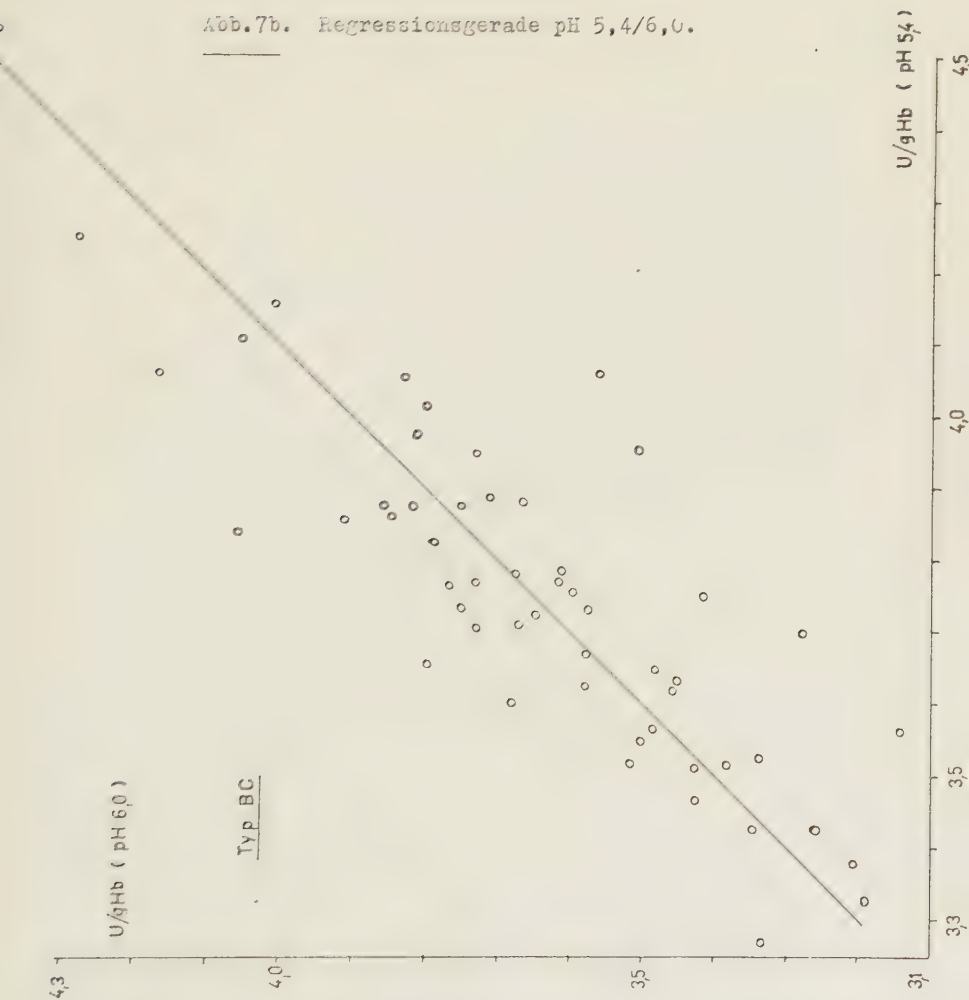


Abb. 7c. Regressionsgerade pH 5,4/0,0.

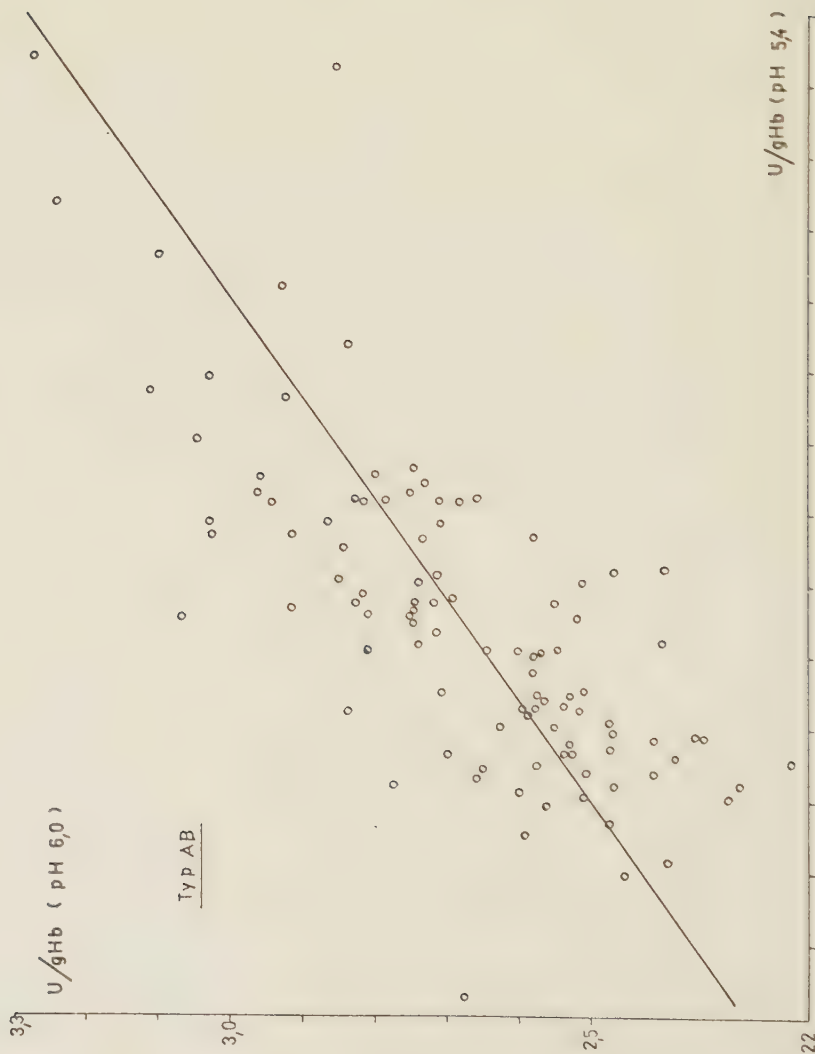


Abb.7d. Regressionsgerade pH 5,4/6,0.

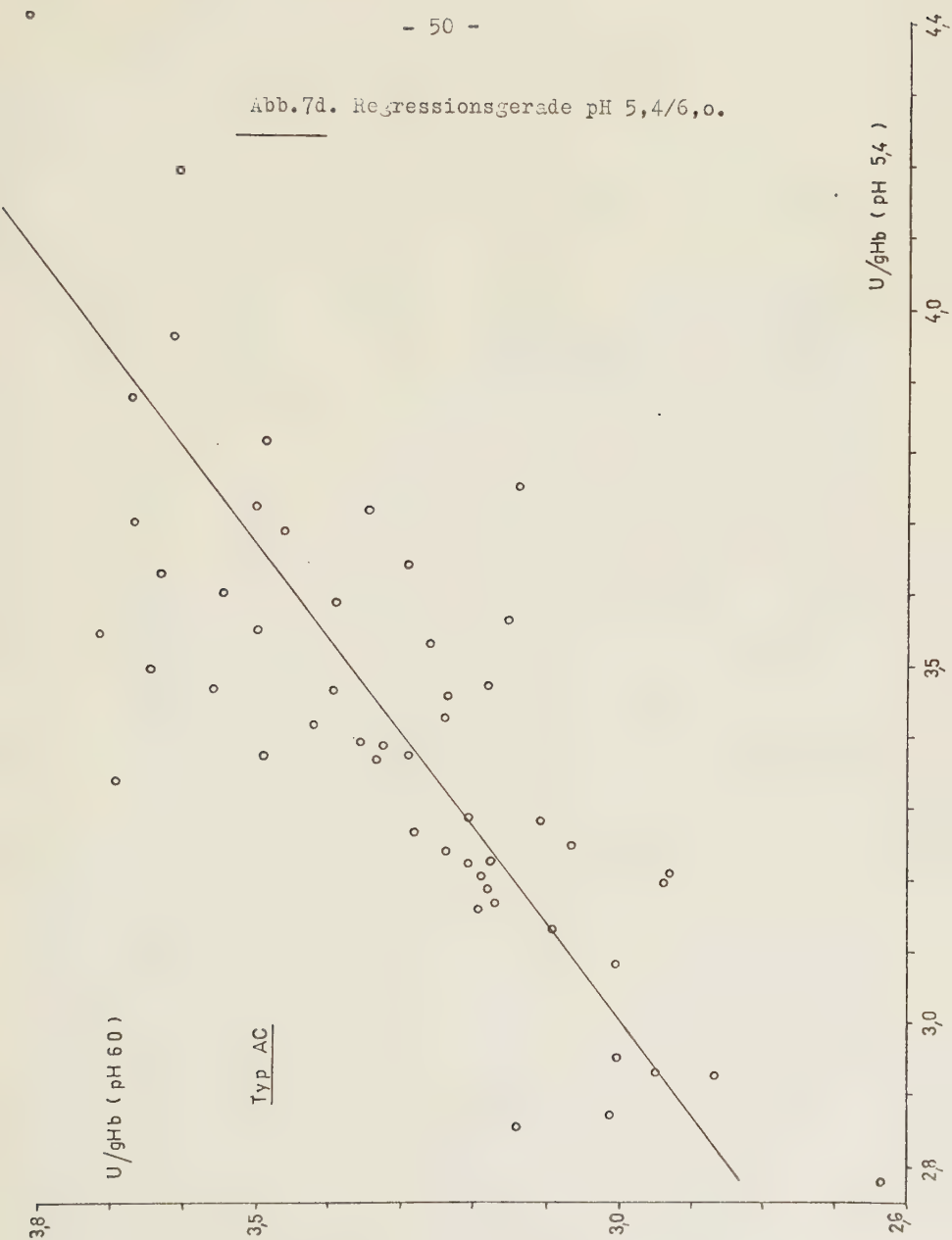


Abb.7e. Regressionsgerade pH 5,4/6,0.



TABELLE VI..

Vergleich der Mittelwerte zweier Normalverteilungen
(Werte bei pH 5,4 und 6,0) bei abhängigen Stichproben.

Typ (n)	Mittel= wert bei pH 5,4 $\bar{x}$	Mittel= wert bei pH 6,0 $\bar{y}$	Varianz der n Differenzen $S_d^2 = \frac{\sum d_i^2 - \frac{(\sum d_i)^2}{n}}{n-1}$	Stand. abw, S_d	Mittel= wert der Differ. pH 5,4/6,0 $\bar{d} = \bar{x} - \bar{y}$
AA (n=94)	2,23	2,18	0,0154	0,124	0,0488
BC (n=54)	3,765	3,663	0,0282	0,168	0,1012
AC (n=53)	3,424	3,315	0,0424	0,205	0,1090
BB (n=93)	2,998	3,104	0,0404	0,201	-0,1047
AB (n=102)	2,653	2,678	0,0246	0,157	-0,0255

Typ	Prüfgröße t_0	Schwellen= wert $t_{1-\frac{\alpha}{2}} ; f$ ($\alpha=5\%$) ($f=n-1$)
AA	3,8141	1,986
BC	4,4259	2,006
AC	3,854	2,007
BB	5,021	1,986
AB	1,649	1,984

TABELLE VII.

Regressionsgerade für die verbundenen Stichproben
der Aktivitätswerte bei pH 5,4 und 6,0. ($y=a+bx$)

Typ (n)	Korrel. koeff. r_{xy}	Abschnitt a.d. y-Achse a	Steigung d. Regress. geraden b	Stand. abw. pH 5,4 s_x	Stand. abw. pH 6,0 s_y
AA (n=94)	0,8021	0,5174	0,746	0,2031	0,1889
AB (n=102)	0,7419	0,7999	0,7080	0,223	0,213
BB (n=93)	0,7709	0,5863	0,8394	0,282	0,307
AC (n=53)	0,8528	0,7381	0,7526	0,394	0,347
BC (n=54)	0,8272	-0,0889	0,997	0,248	0,299

die Mittelwerte zu den Standardabweichungen sind aus Tabelle VI
zu entnehmen.

- 54 -

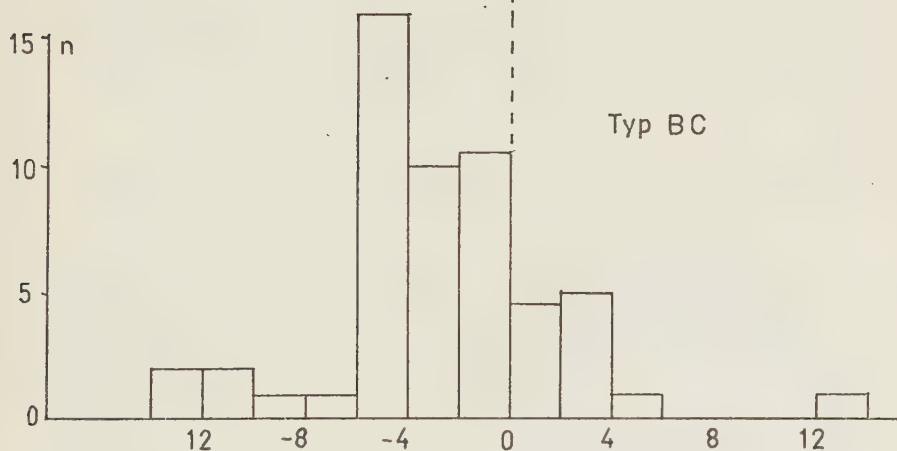
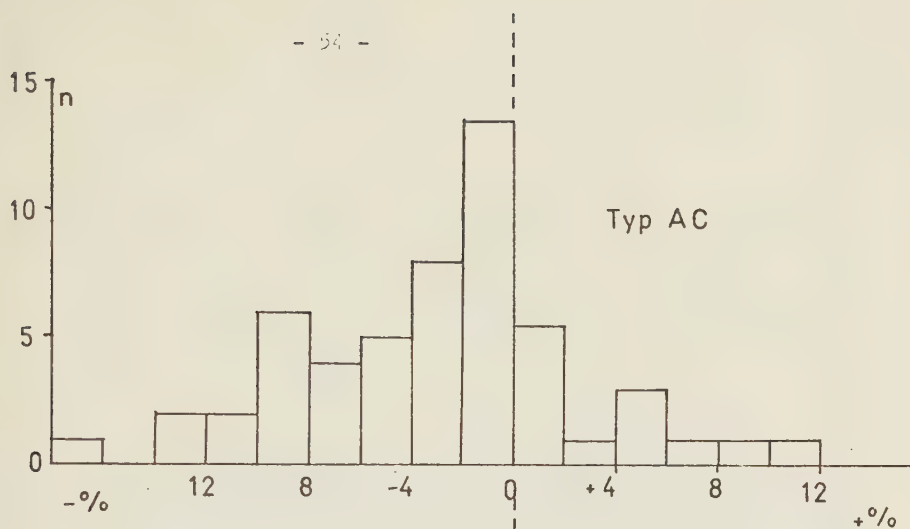
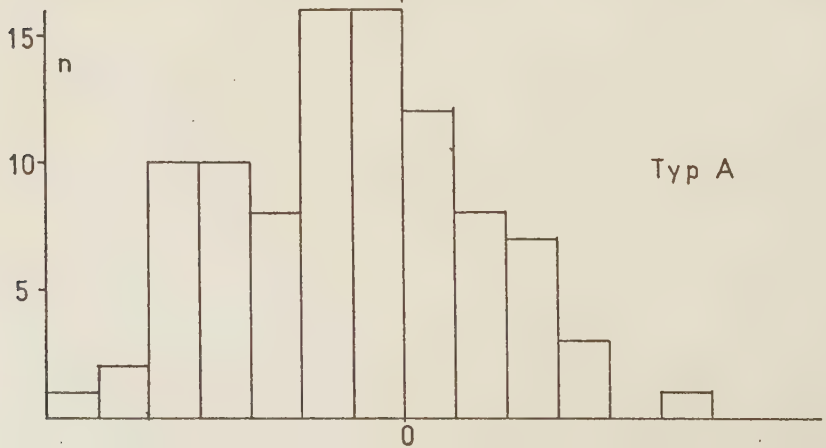
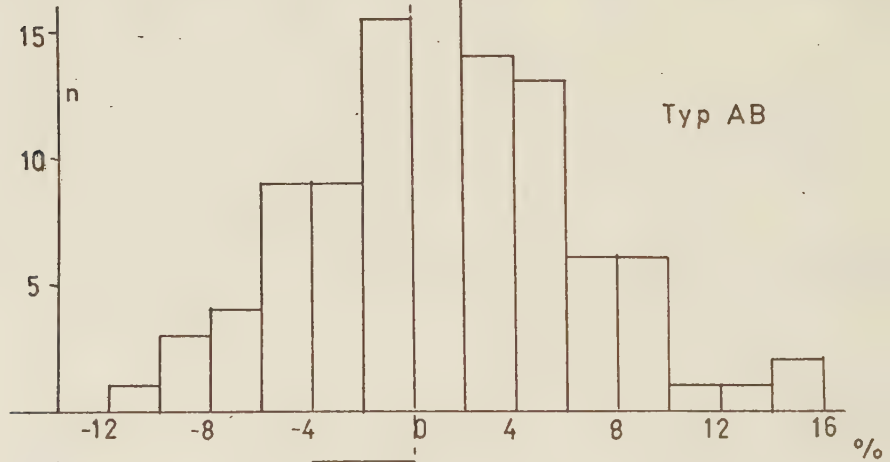
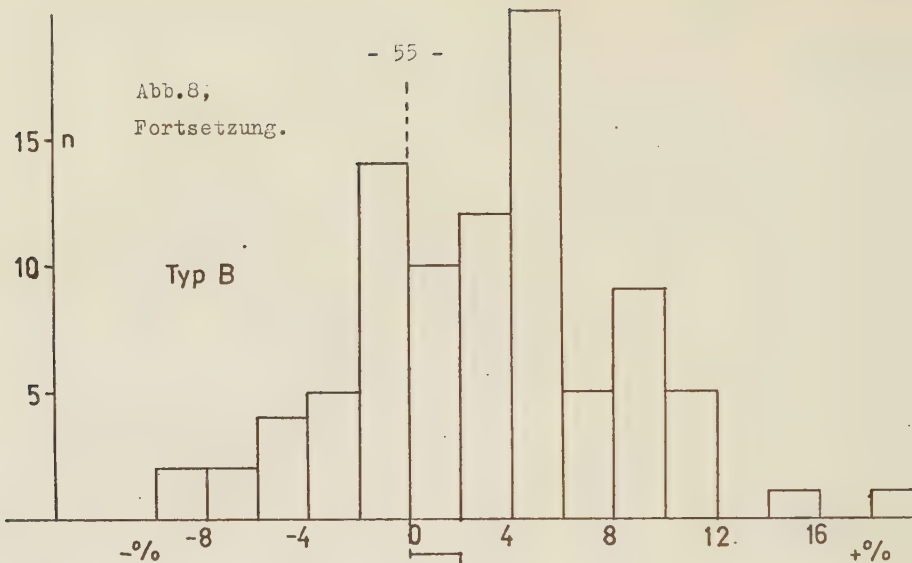


Abb. 8. Häufigkeitsverteilung der Aktivitätsdifferenz in %
von pH 5,4 und 6,0 ,bezogen auf pH 5,4.

Abb.8;
Fortsetzung.



Bei der Beurteilung ist zu bedenken, daß der Test relativ unempfindlich gegen Abweichungen von der Normalität der Verteilungen ist.

Aus der Tabelle VI ist zu entnehmen, daß sich die Mittelwerte bei pH 5,4 und 6,0 bei allen Typen außer AB signifikant unterscheiden.

Für jedes Einzelwertpaar wurde das Aktivitätsverhältnis der beiden pH-Werte zueinander untersucht und die Änderung in Prozent, bezogen auf die Aktivität bei pH 5,4 berechnet. Die Häufigkeitsverteilung ist aus Abb. 8, a-e zu ersehen. Hieraus ist auch zu entnehmen, warum die Mittelwerte des Mischtyps AB sich nicht signifikant unterscheiden: Typ B hat das Häufigkeitsmaximum bei +4 % und Typ A bei -2 %, woraus sich bei Addition der Eigenschaften für AB ein Maximum bei +1 % ergibt, wie es auch gefunden wurde.

Prüfung der Relation zwischen Hb/Vol und Aktivität/Vol.

Da in dieser Untersuchung, um mit anderen Autoren vergleichbare Werte zu erhalten, der Hämoglobingehalt als Bezugsgröße verwendet wurde, ist auch das Verhältnis von gHb/ml zu Units/ml*Min auf qualitativen und quantitativen Zusammenhang geprüft worden.

Weil für alle Typen etwa gleiche Verhältnisse anzunehmen sind, wurde diese Relation nur für Typ B berechnet.

Es ergab sich eine Regressionsgerade $y=2,578x+0,078$ und ein Korrelationskoeffizient von 0,87.

Dabei ist y die Aktivität in U/ml*Min und x die gHb/ml. Der geringe Abschnitt von 0,078 auf der y-Achse bedeutet, daß nur eine geringe Abweichung von der direkten Proportionalität besteht. (s. auch Abb. 9 und Tabelle VIII.)

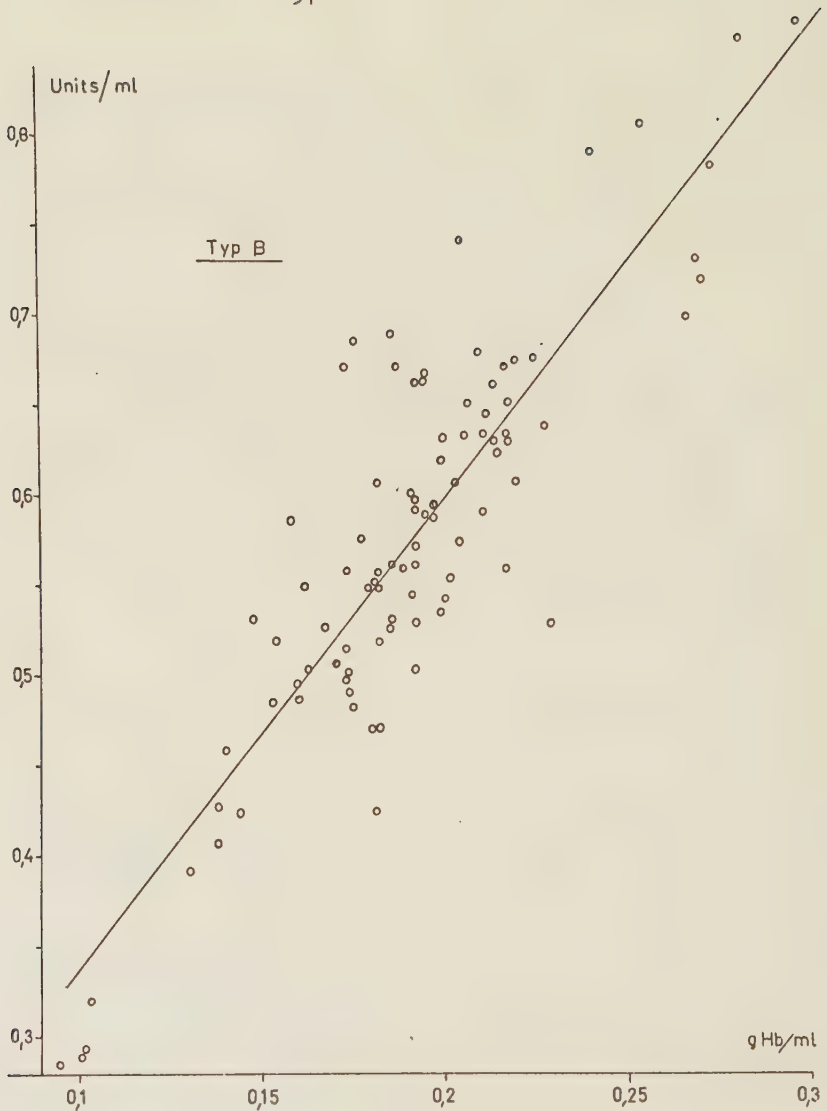


Abb.9. Regressionsgerade, welche Auskunft über die
Beziehung zwischen Aktivität/Vol und gHb/Vol gibt.
Sie ermöglicht die Schätzung der Aktivität bei geg. Hb.

Tabelle VIII. Beziehung zwischen gHb/ml und Units/ml.

Regressionsgerade: $y = 2,578 x + 0,078$

Korrelationskoeffizient : 0,8705

$\bar{x} = 0,191$ $\bar{y} = 0,5704$ $S_x^2 = 0,0012$ $S_y^2 = 0,0111$

$S_{xy} = 0,0032$ $S_x = 0,0357$ $S_y = 0,1057$

x:	y:	y_x :	$y - y_x$
0.1830	0.6045	0.5497	0.0547
0.1820	0.5566	0.5497	0.0068
0.2290	0.6369	0.6683	0.0314-
0.1864	0.5266	0.5584	0.0318-
0.1820	0.4220	0.5471	0.1251-
0.1410	0.4593	0.4414	0.0178
0.2040	0.6040	0.6038	0.0001
0.2010	0.5396	0.5961	0.0565-
0.1609	0.4870	0.4927	0.0057-
0.1014	0.2797	0.3353	0.0566-
0.1308	0.3884	0.4151	0.0267-
0.2260	0.6730	0.6605	0.0124
0.1390	0.4060	0.4362	0.0302-
0.0956	0.2850	0.3243	0.0293-
0.2166	0.6200	0.6415	0.0115-
0.1750	0.4885	0.5291	0.0406-
0.1380	0.4232	0.4337	0.0105-
0.2030	0.5538	0.6012	0.0474-
0.1930	0.5000	0.5755	0.0755-
0.2180	0.5550	0.6399	0.0849-
0.1965	0.6648	0.5845	0.0802
0.2115	0.6770	0.6232	0.0537
0.1920	0.5260	0.5755	0.0495-
0.1971	0.5870	0.5860	0.0009
0.2082	0.6487	0.6146	0.0340
0.1929	0.6616	0.5778	0.0827
0.2132	0.6240	0.6275	0.0064
0.2154	0.6284	0.6332	0.0048-
0.1892	0.6706	0.5657	0.1048
0.1870	0.5600	0.5600	0.0000-
0.2080	0.6487	0.6141	0.0345
0.2070	0.5920	0.6116	0.0186-
0.1825	0.5580	0.5484	0.0095
0.1819	0.5556	0.5468	0.0087

Fortsetzung Tabelle VIII:

x:	y:	y_x :	$y - y_x$:
0.1460	0.5311	0.4618	0.0692
0.1460	0.5300	0.5509	0.0000
0.1470	0.5300	0.5600	0.0300-
0.1460	0.6620	0.5332	0.0787
0.1430	0.5180	0.5417	0.0317-
0.1500	0.5550	0.4678	0.0871
0.1740	0.4870	0.5265	0.0265-
0.1820	0.5481	0.5471	0.0000
0.1020	0.2920	0.3408	0.0488-
0.1450	0.4220	0.4517	0.0297-
0.1680	0.5250	0.5110	0.0139
0.1640	0.5030	0.5007	0.0022
0.1450	0.4490	0.4517	0.0027-
0.1780	0.5730	0.5368	0.0361
0.1030	0.3190	0.3434	0.0244-
0.1750	0.5011	0.5291	0.0280-
0.1920	0.5432	0.5729	0.0297-
0.1740	0.5560	0.5265	0.0294
0.1930	0.5960	0.5755	0.0204
0.1810	0.4820	0.5445	0.0625-
0.1980	0.5880	0.5884	0.0004-
0.2000	0.5350	0.5935	0.0585-
0.1740	0.6690	0.5265	0.1424
0.1930	0.5578	0.5755	0.0177-
0.1920	0.5984	0.5729	0.0254
0.1900	0.5580	0.5677	0.0097-
0.1930	0.5880	0.5755	0.0124
0.1770	0.6810	0.5342	0.1467
0.2010	0.6195	0.5961	0.0233
0.2685	0.6973	0.7701	0.0728-
0.2720	0.7176	0.7791	0.0615-
0.2560	0.8027	0.7379	0.0647
0.2820	0.8594	0.8075	0.0518
0.2745	0.7780	0.7856	0.0076-
0.1860	0.6872	0.5597	0.1274
0.2420	0.7890	0.7018	0.0871
0.2710	0.7269	0.7766	0.0497-
0.2160	0.6203	0.6348	0.0145-
0.2180	0.6705	0.6399	0.0305
0.2210	0.6730	0.6477	0.0252
0.2190	0.6486	0.6425	0.0060
0.2300	0.5280	0.6709	0.1429-
0.1832	0.4690	0.5502	0.0812-
0.1759	0.4804	0.5314	0.0510-
0.1541	0.4850	0.4752	0.0097
0.1624	0.5560	0.4966	0.0593
0.2129	0.6425	0.6268	0.0156
0.1548	0.5144	0.4770	0.0373
0.1739	0.5108	0.5260	0.0152-
0.1936	0.5716	0.5770	0.0054-
0.2194	0.6304	0.6435	0.0131-
0.2010	0.6296	0.5961	0.0334
0.1740	0.5100	0.5265	0.0165-
0.2058	0.5740	0.6085	0.0345-
0.2065	0.6235	0.6103	0.0131
0.1830	0.5490	0.5497	0.0007-
0.2210	0.6060	0.6477	0.0417-
0.2150	0.6580	0.6322	0.0257
0.2120	0.5890	0.6244	0.0354-

Der Typ C.

Vom Typ C wurden 8 Beispiele gefunden, was jedoch keine Aussage über die relative Häufigkeit zuläßt, da es sich um ausgewählte Proben handelte.

Bezogen auf den Typ AC ergibt sich eine Häufigkeit von 0,46 % der Gesamtpopulation.

Leider war es wegen der Anonymität der Blutspender nicht möglich, Familienuntersuchungen durchzuführen.

Ebenso konnte auch ein gefundener Genotyp $P^C P^O$ nicht weiter untersucht werden.

Die Aktivität des Typs C O betrug 2,25 U/gHbxMin bei pH 5,4 und 2,07 U/gHbxMin bei pH 6,0. Das entspricht quantitativ den Ergebnissen von Herbich et al (1970); d.h. halbe Aktivität des Typs C.

Das Elektrophoresemuster war von den anderen des Typs C nicht zu unterscheiden.

Ein Typ C wurde doppelt untersucht, nämlich einmal 6 Stunden alt und ein zweites Mal nach 5 Tagen Lagerung als Vollblut bei $+4^{\circ}C$. Die veränderten Relationen der Aktivität bei beiden pH-Werten zeigt zusammen mit den übrigen C Typen Tabelle IX.

Tabelle IX.

Aktivität des Phänotyps C.

Nr.	glib/ml	U/ml·min pH 5,4	U/glib·min pH 5,4	U/ml·min pH 6,0	U/glib·min pH 6,0	% Differenz pH 5,4/ 6,0
1.	0,137	0,844	4,5138	0,7365	4,206	-6,85
2.	0,163	0,7346	4,8750	0,827	5,074	+3,94
3.	0,2115	0,823	3,8910	0,784	3,707	-4,73
4.	0,17	0,7557	4,445	0,697	4,101	-7,75
5.	0,193	0,826	4,2810	0,817	4,235	-1,75
6.	0,1742	0,8238	4,729	0,7946	4,561	-3,56
7.	0,1304	0,7994	4,4317	0,7946	4,405	-0,603
8a.	0,153	0,703	4,595	0,710	4,642	+1,25
8b.	0,165	0,7184	4,354	0,6875	4,167	-4,30

8a : Untersuchung von 6 Stunden alten Blut.
8b : dieselbe Probe nach 5 Tagen Lagerung als Vollblut bei +4°C.

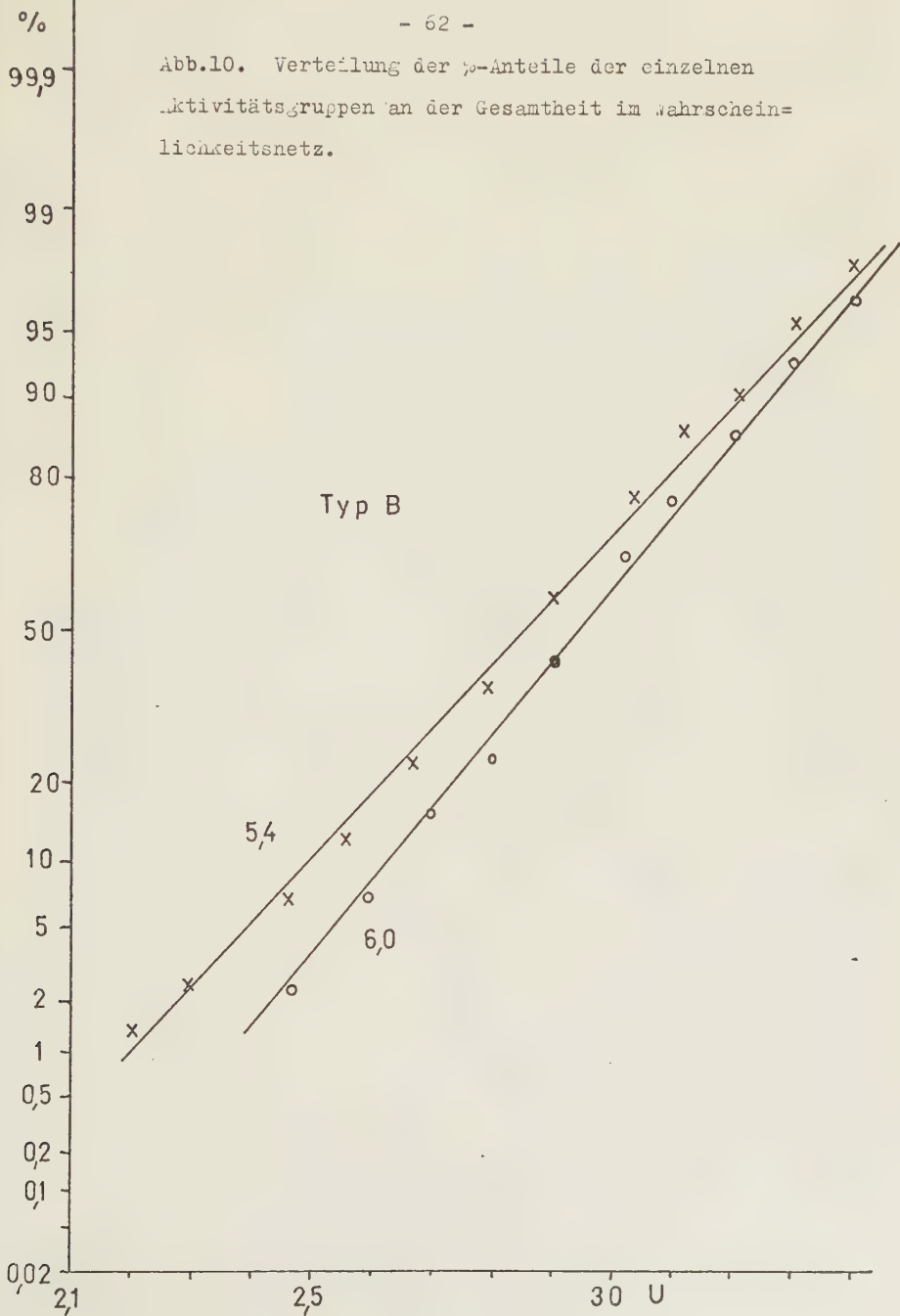


Abb.10.

Fortsetzung.

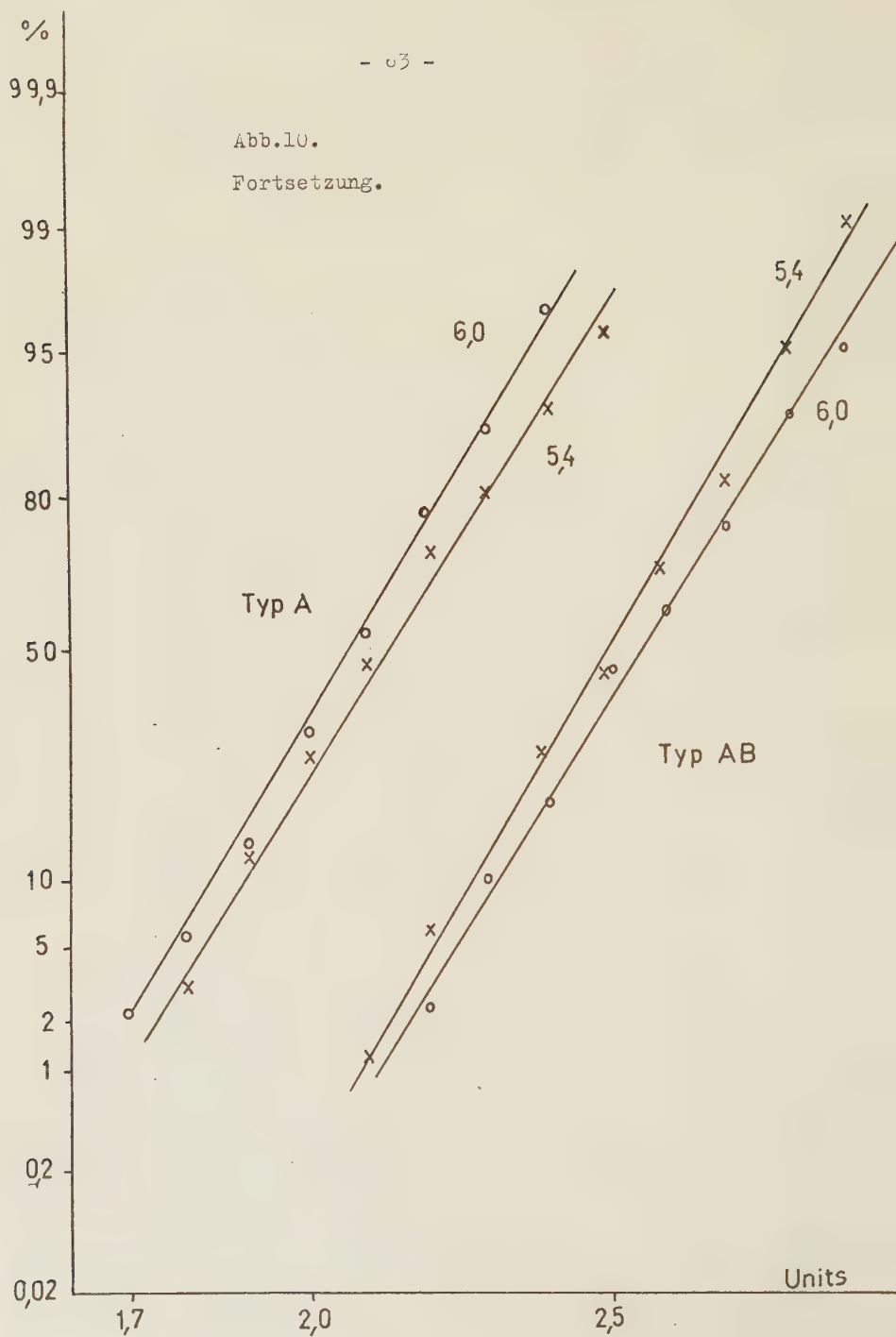


Abb.10.

Fortsetzung.

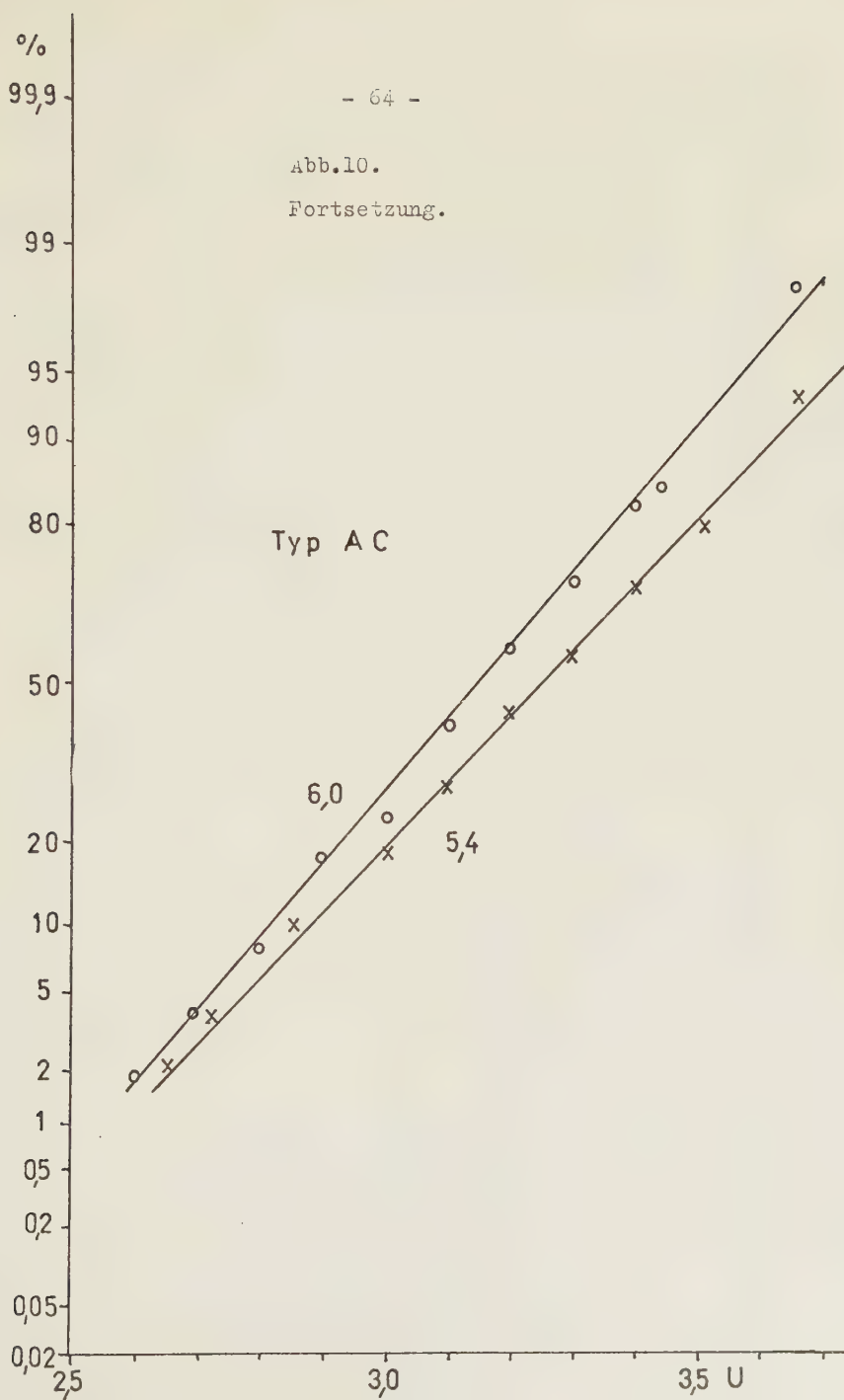


Abb.10.

Fortsetzung.

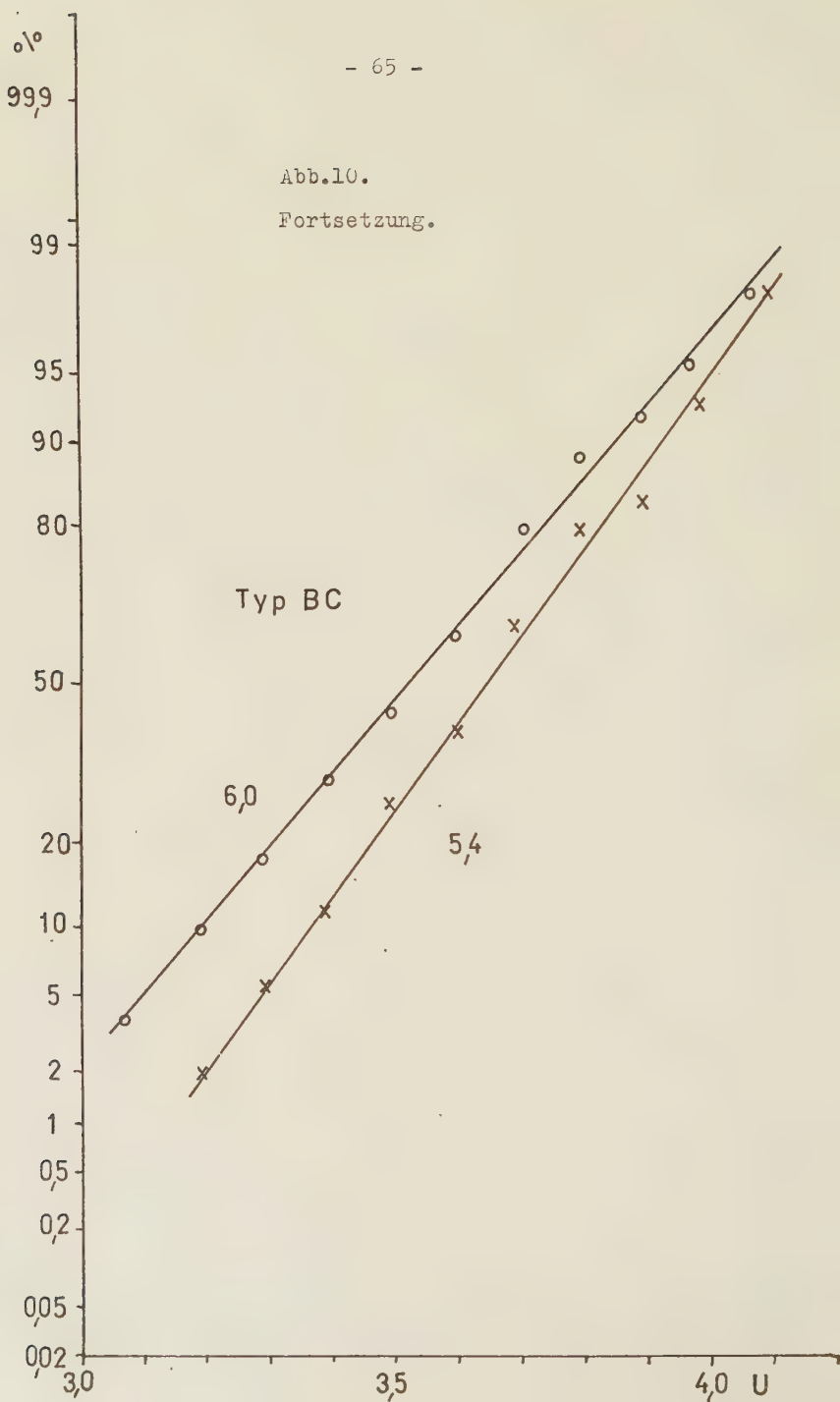


TABELLE Va. χ^2 -Anpassungstest für die errechneten
mittelwerte.

Kl. Nr. j	Klassen= grenzen:			$\frac{x - \mu}{\sigma}$		$\phi\left(\frac{x - \mu}{\sigma}\right)$		$\phi\left(\frac{x_0 - \mu}{\sigma}\right) -$ $\phi\left(\frac{x_u - \mu}{\sigma}\right)$		h _j	n _j	A _j
	x_u	x_0	x_u	x_u	x_0	x_u	x_0					
AA	1	1,9		-1,63	0,0000	0,0516	0,0516	5,01	11	7,16		
	2	1,9	2,0	-1,63	-1,14	0,0516	0,1271	0,0755	7,32	14	6,10	
	3	2,0	2,1	-1,14	-0,64	0,1271	0,2611	0,1340	13,00	19	2,77	
	4	2,1	2,2	-0,64	-0,15	0,2611	0,4404	0,1793	17,39	22	1,22	
	5	2,2	2,3	-0,15	0,34	0,4404	0,6331	0,1927	18,69	12	2,39	
	6	2,3	2,4	0,34	0,84	0,6331	0,7995	0,1664	16,14	7	5,18	
	7	2,4	2,5	0,84	1,83	0,7995	0,9664	0,1669	16,19	5	7,73	
	8	2,6	1,83			0,9664	1,0000	0,0336	3,26	7	<u>4,29</u>	36,84
AB	1		2,3	-1,63	0,0000	0,0516	0,0516	5,26	7	0,58		
	2	2,3	2,4	-1,63	-1,15	0,0516	0,1251	0,0735	7,50	23	32,03	
	3	2,4	2,5	-1,15	-0,68	0,1251	0,2483	0,1232	12,57	16	0,94	
	4	2,5	2,6	-0,68	-0,21	0,2483	0,4168	0,1685	17,19	21	0,84	
	5	2,6	2,7	-0,21	0,27	0,4168	0,6064	0,1896	19,34	13	2,08	
	6	2,7	2,8	0,27	0,74	0,6064	0,7704	0,1640	16,73	13	0,83	
	7	2,8	0,74			0,7704	1,0000	0,2296	23,42	9	<u>8,88</u>	46,18
AC	1		2,8	-1,59	0,0000	0,0559	0,0559	2,96	5	1,41		
	2	2,8	3,0	-1,59	-1,08	0,0559	0,1401	0,0842	4,46	5	0,065	
	3	3,0	3,2	-1,08	-0,58	0,1401	0,2810	0,1409	7,47	12	2,75	
	4	3,2	3,4	-0,58	-0,07	0,2810	0,4721	0,1911	10,13	14	1,48	
	5	3,4	3,6	-0,07	0,43	0,4721	0,6664	0,1943	10,30	9	0,16	
	6	3,6	0,43	+		0,6664	1,0000	0,3336	17,68	8	<u>5,20</u>	11,17
BB	1		2,5	-1,65	0,0000	0,0495	0,0495	4,60	6	0,43		
	2	2,5	2,6	-1,65	-1,31	0,0495	0,0951	0,0456	4,24	5	0,14	
	3	2,6	2,7	-1,31	-0,98	0,0951	0,1635	0,0684	6,36	10	2,08	
	4	2,7	2,8	-0,98	-0,64	0,1635	0,2611	0,0976	9,08	12	0,94	
	5	2,8	2,9	-0,64	-0,30	0,2611	0,3821	0,1210	11,25	18	4,05	
	6	2,9	3,0	-0,30	0,04	0,3821	0,5160	0,1339	12,45	17	1,66	
	7	3,0	3,1	0,04	0,38	0,5160	0,6480	0,1320	12,28	8	1,49	
	8	3,1	3,3	0,38	1,05	0,6480	0,8531	0,2051	19,07	9	5,32	
	9	3,3	1,05			0,8531	1,0000	0,1469	13,66	8	<u>2,35</u>	18,46
BC	1		3,4	-1,47	0,0000	0,0708	0,0708	3,54	6	1,71		
	2	3,4	3,5	-1,47	-1,07	0,0708	0,1423	0,0715	3,58	8	5,46	
	3	3,5	3,6	-1,07	-0,66	0,1423	0,2546	0,1123	5,62	7	0,34	
	4	3,6	3,7	-0,66	-0,26	0,2546	0,3974	0,1428	7,14	9	0,48	
	5	3,7	3,8	-0,26	0,14	0,3974	0,5557	0,1583	7,92	9	0,15	
	6	3,8	4,0	0,14	0,95	0,5557	0,8289	0,2732	13,66	6	4,30	
	7	4,0	0,95			0,8289	1,0000	0,1711	8,56	5	<u>1,48</u>	13,92

Prüfgrößen für $\alpha = 5\%$:	Typ AA	Typ AB	Typ AC	Typ BB	Typ BC
	11,07	9,49	7,81	12,59	9,49
$\alpha = 1\%$:	15,09	13,28	11,34	16,81	13,28

χ^2 -Anpassungstest für die dem Wahrscheinlichkeitsnetz entnommenen Mittelwerte.

	Kl.- Nr.j	Klassen- grenzen:		$\frac{x - \mu}{\sigma}$		$\Phi(\frac{x - \mu}{\sigma})$		$\Phi(\frac{x_0 - \mu}{\sigma}) -$ $\Phi(\frac{x_u - \mu}{\sigma})$	hj	nj.	A j
		X _u	X _o	X _u	X _o	X _u	X _o				
A	1	-∞	1,9	-	- 1,26	0,0000	0,1038	0,1038	9,8	12	0,4939
	2	1,9	2,0	- 1,26	- 0,74	0,1038	0,2296	0,1258	11,8	14	0,4102
	3	2,0	2,1	- 0,74	- 0,21	0,2296	0,4168	0,1872	17,6	18	0,0091
	4	2,1	2,2	- 0,21	0,32	0,4168	0,6255	0,2087	19,6	22	0,2939
	5	2,2	2,3	0,32	0,84	0,6255	0,7995	0,1740	16,4	12	1,1805
	6	2,3	2,4	0,84	1,37	0,7995	0,9147	0,1152	10,8	7	1,3370
	7	2,4		1,37	1,37	0,9147	1,0000	0,0853	8,0	9	0,1250
											3,8496
B	1		2,5	/	- 1,25	0,000	0,1056	0,1056	9,4	6	1,2298
	2	2,5	2,6	- 1,25	- 0,89	0,1056	0,1867	0,0811	7,2	5	0,6722
	3	2,6	2,7	- 0,89	- 0,54	0,1867	0,2946	0,1079	9,6	9	0,0375
	4	2,7	2,8	- 0,54	- 0,18	0,2946	0,4286	0,1340	11,9	13	0,1017
	5	2,8	2,9	- 0,18	0,18	0,4286	0,5714	0,1428	12,7	18	2,2118
	6	2,9	3,0	0,18	0,54	0,5714	0,7054	0,1340	11,9	18	3,1269
	7	3,0	3,1	0,54	0,89	0,7054	0,8133	0,1079	9,6	8	0,2667
	8	3,1		0,89	/	0,8133	1,0000	0,1867	16,6	12	1,2747
											3,8213
AB	1		2,4	-	- 0,56	0,000	0,2877	0,2877	28,2	28	0,00
	2	2,4	2,5	- 0,56	0,0	0,2877	0,5000	0,2123	20,8	16	1,11
	3	2,5	2,6	0,00	0,56	0,5000	0,7123	0,2123	20,8	22	0,07
	4	2,6	2,7	0,56	1,11	0,7123	0,8665	0,1542	15,1	14	0,08
	5	2,7	+ ∞	1,11	+ ∞	0,8665	1,0000	0,1335	13,1	18	1,83 3,09
AC	1		2,9	/	- 1,35	0,000	0,0885	0,0885	4,3	8	3,18
	2	2,9	3,1	- 1,35	- 0,58	0,0885	0,2810	0,1925	9,4	6	1,23
	3	3,1	3,3	- 0,58	0,19	0,2810	0,5753	0,2943	14,4	13	0,14
	4	3,3	3,5	0,19	0,96	0,5753	0,8315	0,2562	12,6	12	0,03
	5	3,5		0,96	/	0,8315	1,0000	0,1685	8,3	10	0,35 4,93
BC	1		3,4	/	- 1,04	0,0000	0,1492	0,1492	7,9	6	0,46
	2	3,4	3,6	- 1,04	- 0,21	0,1492	0,4168	0,2676	14,2	15	0,05
	3	3,6	3,7	- 0,21	0,21	0,4168	0,5832	0,1664	8,8	12	1,16
	4	3,7	3,9	0,21	0,21	0,5832	0,8508	0,2676	14,2	11	0,72
	5	3,9		1,04	/	0,8508	1,000	0,1492	7,9	9	0,15 2,54

Phänotyp A. (1. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gHb·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30Min
0,1427	0,3056	2,1422	64,265	133,886	0,2992	2,0967	62,9014	131,0445
0,15699	0,4022	2,562	76,854	160,113	0,3965	2,5256	75,769	157,853
0,2133	0,4139	1,940	50,2186	121,288	0,4167	1,9539	58,6178	122,120
0,2072	0,4659	2,248	67,446	140,513	0,4224	2,0388	61,165	127,428
0,1915	0,38717	2,0218	60,6545	126,363	0,38718	2,0218	60,654	126,364
0,184	0,459	2,496	74,893	156,027	0,4512	2,4523	73,570	153,272
0,208	0,442	2,126	63,795	132,907	0,4415	2,1226	63,678	132,663
0,167	0,330	1,976	59,284	123,507	0,3559	2,1315	63,945	133,218
0,233	0,5432	2,3316	69,948	145,725	0,531	2,276	68,294	142,279
0,213	0,480	2,254	67,608	140,850	0,495	2,327	69,835	145,49
0,191	0,3709	1,9422	58,266	121,388	0,3677	1,925	57,750	120,326
0,2358	0,4824	2,0460	61,380	127,876	0,4346	1,843	55,294	115,196
0,2129	0,46	2,163	64,898	135,204	0,47	2,209	66,269	138,06
0,1832	0,434	2,372	71,170	148,271	0,443	2,4165	72,498	151,037
0,1325	0,38	2,87	86,10	179,379	0,355	2,6865	80,595	167,905
0,1733	0,453	2,615	78,46	163,467	0,401	2,316	69,48	144,75
0,18186	0,422	2,318	69,55	144,904	0,404	2,225	66,745	139,053
0,2004	0,482	2,407	72,223	150,465	0,436	2,176	65,30	136,05
0,17685	0,4138	2,34	70,204	146,26	0,377	2,1319	63,956	133,249
0,2291	0,438	1,9111	57,336	119,449	0,464	2,024	60,733	126,528
0,163	0,342	2,099	62,977	131,202	0,36	2,2186	66,558	138,66
0,201	0,4565	2,271	68,135	141,948	0,446	2,2187	66,56	138,67
0,208	0,4175	2,007	60,228	125,476	0,435	2,093	62,801	130,836
0,197	0,402	2,0415	61,245	127,594	0,4459	2,2637	67,913	141,486
0,188	0,3916	2,083	62,495	130,198	0,403	2,143	64,306	133,972
0,17	0,3575	2,103	63,102	131,464	0,3729	2,194	65,821	137,127
0,1705	0,3713	2,178	65,343	136,131	0,3851	2,2589	67,768	141,184
0,215	0,4508	2,0968	62,906	131,055	0,4102	1,908	57,249	119,269
0,204	0,3981	1,9515	58,547	121,974	0,4013	1,967	59,024	122,967
0,1707	0,3486	2,043	61,276	127,658	0,3551	2,0805	62,416	130,034
0,166	0,3973	2,393	71,803	149,59	0,3835	2,3104	69,312	144,40
0,215	0,4508	2,0968	62,906	131,054	0,4370	2,0327	60,9828	127,047
0,208	0,3924	1,886	56,603	117,923	0,4143	1,992	59,7607	124,501
0,194	0,4794	2,4710	74,131	154,439	0,442	2,2787	68,3611	142,419
0,1822	0,4867	2,6711	80,134	166,946	0,446	2,453	73,5897	153,3119
0,1769	0,3779	2,1367	64,102	133,546	0,3545	2,004	60,113	125,235
0,2148	0,4924	2,2921	68,765	143,260	0,4599	2,1411	64,234	133,820
0,2227	0,4891	2,1962	65,8887	137,268	0,465	2,087	62,6106	130,434
0,217	0,4072	1,8764	56,293	117,278	0,3958	1,8241	54,7235	114,007
0,2184	0,4607	2,1095	63,286	131,847	0,4388	2,0093	60,278	125,579
0,204	0,3958	1,9403	58,2108	121,273	0,3844	1,8847	56,5408	117,793
0,1978	0,4088	2,0667	62,004	129,175	0,40557	2,0504	61,5118	128,1496
0,198	0,467	2,3588	70,7645	147,4261	0,454	2,2932	68,799	143,3308
0,145	0,3600	2,4829	74,486	155,178	0,3373	2,3263	69,789	145,393
0,212	0,54	2,5473	76,418	159,204	0,5473	2,5817	77,4508	161,356
0,179	0,3421	1,911	57,348	119,475	0,3162	1,767	52,999	110,415
0,177	0,3762	2,1256	63,768	132,8499	0,3702	2,0917	62,751	130,731
0,210	0,482	2,2973	68,921	143,5869	0,457	2,178	65,3307	136,1056
0,183	0,4054	2,2154	66,463	138,464	0,4005	2,1888	65,665	136,802
0,189	0,403	2,132	63,966	133,264	0,4054	2,145	64,353	134,068
0,196	0,433	2,209	66,274	138,070	0,4265	2,1760	65,2810	136,0021
0,194	0,4678	2,411	72,348	150,7267	0,464	2,390	71,722	149,42

Phänotyp A. (2. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gH·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30Min
0,197	0,4370	2,2184	66,555	138,656	0,3908	1,984	59,516	123,99
0,179	0,467	2,609	78,275	163,074	0,4305	2,405	72,160	150,334
0,174	0,4402	2,5303	75,911	158,149	0,4070	2,5393	70,179	146,27
0,185	0,4054	2,191	65,744	136,966	0,4216	2,2791	68,374	142,445
0,179	0,4159	2,3238	69,714	145,238	0,3948	2,2060	66,181	137,877
0,168	0,4346	2,5869	77,609	161,686	0,3981	2,3697	71,0935	148,111
0,174	0,4175	2,3999	71,997	149,99	0,4313	2,4791	74,373	154,945
0,194	0,4167	2,148	64,449	134,269	0,4289	2,211	66,33	138,181
0,193	0,4435	2,298	68,942	143,63	0,4386	2,272	68,186	142,055
0,196	0,4378	2,2339	67,0186	139,622	0,4313	2,2008	66,025	137,55
0,186	0,410	2,2058	66,175	137,865	0,4216	2,266	68,006	141,679
0,194	0,4443	2,2904	68,712	143,151	0,476	2,457	73,728	153,600
0,213	0,4329	2,032	60,98	127,051	0,4629	2,1736	65,2099	135,84
0,1771	0,4346	2,454	73,62	153,378	0,4029	2,2754	68,2646	142,218
0,1774	0,3316	1,8683	56,050	116,772	0,3170	1,786	53,58	111,633
0,1484	0,3121	2,1036	63,108	131,475	0,2992	2,0161	60,485	126,0111
0,1333	0,3421	2,567	77,008	160,435	0,2943	2,208	66,242	138,0045
0,1892	0,3956	2,0914	62,741	130,711	0,363	1,91997	57,599	119,998
0,1864	0,3737	2,0053	60,1607	125,334	0,373	2,001	60,030	125,063
0,233	0,5748	2,467	74,0199	154,208	0,5302	2,2759	68,278	142,278
0,23	0,5505	2,394	71,8124	149,609	0,55705	2,422	72,658	151,372
0,201	0,4565	2,271	68,135	141,948	0,446	2,2187	66,56	138,67
0,166	0,3973	2,393	71,803	149,59	0,3855	2,3104	69,312	144,40
0,2309	0,476	2,062	61,863	128,880	0,4899	2,122	63,654	132,613
0,19	0,407	2,143	64,293	133,944	0,3975	2,092	62,756	130,742
0,183	0,389	2,129	63,862	133,046	0,389	2,129	63,862	133,046
0,2119	0,411	1,940	58,223	121,297	0,415	1,959	58,796	122,493
0,17	0,3892	2,289	68,683	143,090	0,3729	2,194	65,821	137,127
0,213	0,4865	2,284	68,522	142,754	0,477	2,238	67,151	139,899
0,1833	0,389	2,123	63,699	132,707	0,383	2,088	62,637	130,496
0,165	0,433	2,624	78,725	164,011	0,398	2,414	72,416	150,866
0,18	0,415	2,304	69,13	144,037	0,422	2,343	70,273	146,402
0,194	0,4435	2,29	68,94	143,63	0,438	2,272	68,186	142,055
0,204	0,440	2,162	64,866	135,138	0,43	2,115	63,456	132,197
0,154	0,346	2,248	67,454	140,530	0,338	2,199	65,969	137,437
0,168	0,384	2,284	68,523	142,757	0,371	2,210	66,323	138,172
0,199	0,461	2,308	69,247	144,265	0,445	2,227	66,814	139,195
0,186	0,398	2,138	64,143	133,632	0,391	2,098	62,941	131,129
0,15	0,329	2,245	67,368	140,349	0,34	2,320	69,604	145,010
0,285	0,643	2,259	67,779	141,207	0,655	2,303	69,087	143,931
0,215	0,4924	2,292	68,765	143,260	0,4599	2,1411	64,234	133,820
0,17	0,3575	2,103	63,102	131,464	0,373	2,194	65,821	137,13
0,186	0,410	2,206	6,618	137,86	0,422	2,266	68,0	141,679

Phänotyp B (1. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gHb·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30Min
0,1489	0,5311	3,567	107,005	222,927	0,4865	3,267	98,019	204,208
0,199	0,594	2,983	89,478	186,412	0,6527	3,280	98,401	205,002
0,187	0,53	2,835	5,073	177,236	0,571	3,057	91,076	191,057
0,196	0,662	3,376	101,272	210,985	0,6811	3,475	104,251	217,19
0,183	0,518	2,831	84,94	176,96	0,543	2,969	89,059	185,54
0,159	0,585	3,682	110,458	230,12	0,600	3,7737	113,212	235,858
0,174	0,497	2,861	85,838	178,828	0,523	3,006	90,171	187,857
0,182	0,5481	3,0117	90,351	188,231	0,574	3,154	94,63	197,141
0,102	0,292	2,862	85,854	178,862	0,308	3,020	90,6	188,799
0,145	0,422	2,913	87,403	182,09	0,4476	3,0867	92,604	192,925
0,168	0,525	3,127	93,826	195,47	0,512	3,050	91,509	190,645
0,164	0,503	3,065	91,96	191,586	0,4865	2,967	88,995	185,406
0,145	0,449	3,098	92,939	193,624	0,4305	2,969	89,081	185,585
0,178	0,573	3,22	96,618	201,287	0,5514	3,098	92,928	193,60
0,103	0,319	3,094	92,814	193,362	0,2927	2,842	85,256	177,62
0,175	0,50110	2,863	85,903	178,965	0,592	3,3824	101,471	211,398
0,192	0,5432	2,823	84,885	176,844	0,5602	2,9181	87,546	182,387
0,174	0,556	3,1968	95,90	199,798	0,547	3,1455	94,365	196,594
0,193	0,596	3,0879	92,638	192,9954	0,5578	2,890	86,714	180,654
0,181	0,482	2,665	79,964	166,593	0,485	2,679	80,367	167,432
0,198	0,588	2,969	89,069	185,562	0,638	3,222	96,687	201,43
0,2	0,535	2,675	80,273	167,236	0,595	2,9757	89,2738	185,987
0,174	0,669	3,849	115,475	240,573	0,6308	3,6255	108,765	226,593
0,193	0,5578	2,890	86,714	180,654	0,618	3,205	96,167	200,347
0,192	0,5984	3,1167	93,50	194,792	0,64	3,336	100,088	208,517
0,19	0,558	2,936	88,08	183,506	0,5846	3,077	92,308	192,308
0,193	0,588	3,050	91,503	190,632	0,6373	3,302	99,066	206,387
0,177	0,681	3,848	115,442	240,5041	0,7459	4,2145	126,437	263,409
0,201	0,6195	3,082	92,460	192,625	0,681	3,388	101,658	211,787
0,2685	0,6973	2,5971	77,9133	162,3195	0,7735	2,6575	79,7254	166,0945
0,272	0,7176	2,6382	79,1466	164,889	0,7775	2,8588	85,7645	178,676
0,256	0,8027	3,1356	94,070	195,980	0,8149	3,1832	95,496	198,95
0,283	0,8594	3,037	91,1124	189,8175	0,8433	2,9798	89,393	186,236
0,2745	0,778	2,836	85,072	177,233	0,8108	2,9538	88,6167	184,618
0,1869	0,6872	3,6767	110,303	229,798	0,6904	3,7418	112,256	233,8656
0,242	0,789	3,2584	97,7535	203,6531	0,7459	3,0825	92,476	192,659
0,271	0,7269	2,6823	80,470	167,648	0,8035	2,965	88,953	185,319
0,216	0,6203	2,8717	86,152	179,483	0,6567	3,040	91,2198	190,0414
0,218	0,6705	3,0759	92,279	192,2496	0,6973	3,1987	95,9621	199,921
0,221	0,673	3,0452	91,357	190,328	0,6851	3,10	93,008	193,768
0,219	0,6486	2,9619	88,859	185,124	0,677	3,0916	92,747	193,223
0,23	0,528	2,2985	68,957	143,66	0,5797	2,520	75,619	157,541
0,1832	0,469	2,562	76,879	160,166	0,4962	2,708	81,261	169,294
0,1759	0,4804	2,7312	81,9369	170,702	0,4638	2,636	79,102	164,796
0,1541	0,485	3,1465	94,396	196,659	0,559	3,630	108,919	226,915
0,1624	0,556	3,425	102,753	214,069	0,5777	3,557	106,723	222,34
0,2129	0,6425	3,0183	90,548	188,643	0,6259	2,940	88,206	183,763
0,1548	0,5144	3,3235	99,705	207,7196	0,505	3,263	97,898	203,95
0,1738	0,5108	2,9391	88,1756	183,699	0,5165	2,9718	89,155	185,740
0,1936	0,5716	2,953	88,581	184,544	0,5878	3,0364	91,0941	189,779
0,2194	0,6304	2,873	86,202	179,589	0,6596	3,006	90,1943	187,905

Phänotyp B (2. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gH·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30 Min
0,201	0,6296	3,132	93,973	195,777	0,629	3,130	93,912	195,65
0,174	0,510	2,9311	87,934	183,197	0,5457	3,136	94,0856	196,011
0,2058	0,574	2,793	83,803	174,589	0,578	2,809	84,275	175,574
0,2065	0,6235	3,0195	90,586	188,722	0,656	3,1766	95,298	198,538
0,183	0,549	2,9974	89,923	187,341	0,564	3,082	92,449	192,603
0,221	0,606	2,743	82,276	171,409	0,634	2,867	86,019	179,206
0,215	0,658	3,058	91,757	191,161	0,658	3,058	81,057	191,161
0,212	0,589	2,7767	83,303	173,547	0,5887	2,7767	83,302	173,547
0,183	0,6045	3,3032	99,0955	206,45	0,5972	3,263	97,899	203,957
0,183	0,5566	3,0418	91,253	190,110	0,5457	2,982	89,459	186,372
0,229	0,6369	2,7813	83,439	173,831	0,6495	2,836	85,0854	191,161
0,1864	0,5266	2,825	84,76	176,584	0,5708	3,0624	91,872	191,40
0,182	0,422	2,319	69,567	144,932	0,456	2,504	75,114	156,488
0,141	0,4593	3,258	97,732	203,609	0,48	3,407	102,217	212,954
0,204	0,604	2,9611	88,835	185,073	0,596	2,9214	87,642	182,588
0,201	0,5396	2,6846	80,539	167,791	0,5955	2,963	88,890	185,187
0,1609	0,487	3,0287	90,860	189,293	0,4496	2,7943	83,830	174,647
0,1014	0,2797	2,758	82,763	172,424	0,3572	3,522	105,673	220,153
0,1308	0,3884	2,9694	89,0811	185,585	0,4034	3,084	92,522	192,753
0,226	0,673	2,9778	89,336	186,117	0,668	2,956	88,6905	184,772
0,139	0,406	2,9225	87,676	182,658	0,385	2,7708	83,1258	173,178
0,0956	0,285	2,9855	89,566	186,596	0,3953	4,1347	124,044	258,424
0,2186	0,63	2,882	86,463	180,13	0,6243	2,8561	85,68	178,507
0,175	0,4885	2,791	83,748	174,476	0,5128	2,9306	87,919	183,163
0,138	0,4232	3,067	92,013	191,694	0,4208	3,04947	91,484	190,592
0,203	0,5538	2,7281	81,8432	170,506	0,5676	2,796	83,883	174,750
0,193	0,500	2,5942	77,8283	162,142	0,5282	2,737	82,113	171,069
0,218	0,555	2,548	76,435	159,239	0,5846	2,682	80,452	167,608
0,1965	0,6648	3,384	101,510	211,479	0,692	3,524	105,719	220,248
0,2115	0,677	3,2012	96,036	200,075	0,7062	3,339	100,176	208,700
0,193	0,526	2,726	81,798	170,413	0,532	2,760	82,807	172,514
0,1971	0,587	2,982	89,476	186,409	0,60	3,0442	91,327	190,266
0,2082	0,6487	3,1156	93,4689	194,727	0,6786	3,259	97,7919	203,733
0,1939	0,6616	3,4123	102,369	213,269	0,6616	3,4123	102,369	213,269
0,2132	0,634	2,974	89,223	185,881	0,634	2,974	89,223	185,881
0,2154	0,6284	2,9174	87,521	182,336	0,642	2,9813	89,441	186,336
0,1892	0,6706	3,544	106,326	221,514	0,7014	3,707	111,212	231,692
0,187	0,56	2,996	89,886	187,264	0,61	3,265	97,951	204,065
0,208	0,6487	3,1186	93,5587	194,914	0,6973	3,3525	100,576	209,53
0,207	0,593	2,867	86,0198	179,208	0,657	3,173	95,185	198,304
0,1825	0,558	3,0578	91,736	191,117	0,5499	3,01342	90,4027	188,339
0,1819	0,5556	3,0546	91,637	190,910	0,5532	3,04119	91,2359	190,0748

Phänotyp AB. (1. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gHb·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30 Min
0,182	0,45407	2,4949	74,847	155,931	0,45001	2,472	74,179	154,539
0,183	0,486	2,658	79,755	166,15	0,5027	2,747	82,414	171,695
0,1969	0,464	2,355	70,666	147,22	0,5108	2,594	77,831	162,147
0,186	0,5189	2,790	83,700	174,375	0,564	3,0298	90,893	189,360
0,196	0,559	2,8545	85,635	178,406	0,548	2,8007	84,021	175,045
0,2	0,566	2,8298	84,895	176,865	0,5927	2,9636	88,908	185,227
0,1332	0,422	3,165	94,964	197,840	0,4127	3,098	92,954	193,655
0,23	0,556	2,4184	72,553	151,152	0,5676	2,468	74,033	154,236
0,132	0,333	2,524	75,74	157,792	0,3738	2,8318	84,954	176,988
0,14	0,39407	2,815	84,443	175,924	0,4119	2,942	88,266	183,887
0,205	0,506	2,468	74,0437	154,258	0,5465	2,6658	79,976	166,618
0,181	0,4581	2,531	75,932	158,192	0,4597	2,5400	76,201	158,753
0,20	0,524	2,619	78,5707	163,689	0,548	2,7406	82,219	171,290
0,175	0,493	2,8171	84,513	176,068	0,493	2,8171	84,513	176,068
0,195	0,4776	2,4491	73,475	153,073	0,5019	2,574	77,2172	160,869
0,22	0,568	2,5799	77,398	161,247	0,568	2,5799	77,398	161,247
0,184	0,501	2,723	81,701	170,2109	0,4410	2,3972	71,918	149,829
0,144	0,411	2,855	85,645	178,428	0,4256	2,956	88,686	184,763
0,098	0,257	2,623	78,684	163,926	0,2351	2,399	71,983	149,964
0,148	0,424	2,865	85,9603	179,0840	0,407	2,7503	82,509	171,893
0,218	0,5473	2,510	75,319	156,9148	0,5562	2,5515	76,546	159,472
0,185	0,472	2,5508	76,526	159,429	0,476	2,573	77,1834	160,7989
0,201	0,494	2,4607	73,823	153,797	0,5075	2,5253	75,759	157,832
0,183	0,4897	2,676	80,286	167,264	0,4662	2,5477	76,432	159,233
0,193	0,5222	2,705	81,168	169,1006	0,484	2,5082	75,244	156,7593
0,188	0,559	2,975	89,279	185,998	0,5846	3,10967	93,2901	194,3543
0,187	0,5279	2,8227	84,683	176,423	0,5027	2,688	80,6507	168,0223
0,203	0,4314	2,1249	63,748	132,8103	0,5432	2,6762	80,285	167,261
0,185	0,5011	2,7086	81,259	196,29	0,5254	2,855	85,667	178,473
0,204	0,6997	102,905	214,386	0,5821	0,5821	85,615	178,365	
0,177	0,4913	2,776	83,283	173,506	0,5367	3,032	90,979	189,540
0,203	0,5659	2,788	83,640	174,251	0,5497	2,7081	81,244	169,258
0,181	0,5116	2,8267	84,802	176,67	0,5116	2,8267	84,802	176,67
0,204	0,5432	2,665	79,89	166,44	0,6255	3,068	92,054	191,78
0,206	0,5416	2,6629	78,880	164,333	0,5789	2,8103	84,311	175,649
0,189	0,5043	2,668	80,054	166,78	0,5465	2,8915	78,3155	163,157
0,164	0,428	2,610	78,315	163,157	0,460	2,808	84,248	175,517
0,192	0,5319	2,770	83,111	173,148	0,5594	2,9139	87,419	182,123
0,2143	0,604	2,818	84,565	176,177	0,5805	2,709	81,273	169,319
0,201	0,4832	2,404	72,128	150,268	0,5051	2,5132	75,396	157,075
0,2108	0,5732	2,719	81,584	169,967	0,5724	2,7156	81,468	196,726
0,1939	0,5212	2,6888	80,666	168,054	0,546	2,818	84,555	176,156
0,1986	0,5189	2,612	78,38	163,311	0,510	2,568	77,042	160,504
0,2007	0,6016	2,9977	89,932	187,358	0,608	3,030	90,901	189,378
0,1627	0,454	2,79	83,725	174,428	0,465	2,860	85,81	178,789
0,22	0,5254	2,388	71,649	149,268	0,564	2,56	76,956	160,325
0,229	0,556	2,4289	72,869	151,811	0,608	2,659	79,774	166,196
0,2119	0,5264	2,4890	74,670	155,563	0,497	2,3509	70,5285	146,934
0,1718	0,5232	3,04529	91,3588	190,331	0,4283	2,842	85,268	177,642
0,211	0,526	2,492	74,763	155,755	0,495	2,344	70,324	146,508
0,2208	0,534	2,420	72,601	151,253	0,612	2,773	83,177	173,286
0,1915	0,489	2,551	76,532	159,443	0,5185	2,707	81,232	169,234

Phänotyp AB. (2. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·1. n	25° pH 5,4 U/gHb·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30 Min
0,2685	0,667	2,484	74,516	155,242	0,648	2,413	72,387	150,806
0,252	0,640	2,5419	76,258	158,870	0,646	2,566	76,982	160,379
0,25	0,606	2,424	72,733	151,526	0,574	2,295	68,840	143,418
0,2645	0,710	2,687	80,609	167,936	0,712	2,692	80,747	168,223
0,281	0,675	2,40	72,023	150,049	0,650	2,314	69,427	144,639
0,258	0,714	2,765	82,970	172,854	0,706	2,737	82,121	171,086
0,2	0,689	3,446	103,382	215,38	0,655	3,275	98,274	204,738
0,274	0,675	2,463	73,908	153,975	0,654	2,389	71,688	149,351
0,2398	0,604	2,528	75,857	158,036	0,602	2,518	75,552	157,400
0,2477	0,608	2,455	73,653	153,444	0,550	2,223	66,681	138,918
0,2509	0,629	2,506	75,186	156,638	0,667	2,667	80,03	166,729
0,2004	0,523	2,609	78,293	163,109	0,520	2,599	77,989	162,477
0,1792	0,506	2,823	84,704	176,467	0,476	2,656	79,682	166,003
0,1699	0,47	2,768	83,041	173,002	0,4378	2,577	77,314	161,071
0,1793	0,4139	2,4164	72,493	151,027	0,446	2,603	78,102	162,713
0,1541	0,413	2,678	80,348	167,391	0,435	2,826	84,768	176,599
0,15699	0,465	2,964	88,940	185,292	0,458	2,923	87,700	182,709
0,1685	0,429	2,55	76,513	159,402	0,437	2,598	77,956	162,409
0,1846	0,509	2,756	82,688	172,266	0,525	2,844	85,323	177,756
0,1918	0,499	2,606	78,188	162,893	0,495	2,578	77,364	161,175
0,1774	0,505	2,845	85,358	177,829	0,497	2,806	84,192	175,400
0,1971	0,484	2,458	73,741	153,627	0,470	2,386	71,581	149,128
0,2043	0,497	2,435	73,047	152,181	0,493	2,411	72,332	150,694
0,1918	0,515	2,684	80,534	167,780	0,520	2,714	81,422	169,630
0,19999	0,535	2,679	80,45	167,35	0,5489	2,7448	82,345	171,553
0,226	0,5777	2,556	76,6893	159,769	0,5676	2,5114	75,344	156,966
0,236	0,543	2,300	69,007	143,765	0,5797	2,4565	73,697	153,536
0,196	0,497	2,536	76,078	158,497	0,5185	2,645	79,367	165,349
0,189	0,549	2,909	87,262	181,796	0,595	3,1489	94,4697	196,812
0,231	0,548	2,373	71,186	148,303	0,572	2,475	74,239	154,66
0,219	0,554	2,528	75,864	158,049	0,568	2,594	77,807	162,099
0,205	0,578	2,818	84,545	176,136	0,570	2,783	83,477	173,910
0,173	0,560	3,238	97,160	202,42	0,560	3,241	97,231	202,564
0,193	0,515	2,669	80,097	166,868	0,529	2,745	82,366	171,595
0,231	0,604	2,615	78,452	163,441	0,588	2,547	76,398	159,163
0,215	0,544	2,530	75,918	158,161	0,555	2,579	77,388	161,226
0,1935	0,472	2,437	73,102	152,295	0,485	2,506	75,176	156,616
0,172	0,449	2,612	78,35	163,229	0,455	2,647	79,411	165,439
0,22	0,553	2,512	75,353	156,986	0,546	2,480	74,413	155,027
0,1756	0,548	3,119	93,574	194,947	0,514	2,925	87,9	182,9
0,213	0,566	2,659	79,770	166,189	0,536	2,516	75,488	157,267
0,188	0,509	2,708	81,256	169,285	0,516	2,743	82,291	171,442
0,198	0,524	2,648	79,426	165,470	0,543	2,744	82,312	171,485
0,17	0,463	2,721	81,632	170,068	0,420	2,470	74,120	154,418
0,1924	0,487	2,529	75,859	158,039	0,499	2,592	77,755	161,989
0,195	0,551	2,827	84,827	176,722	0,536	2,746	82,394	171,654
0,1449	0,3587	2,476	74,285	154,761	0,358	2,473	74,201	154,586
0,211	0,524	2,482	74,475	155,156	0,534	2,529	75,858	158,037
0,176	0,435	2,469	74,082	154,337	0,446	2,534	76,017	158,368
0,218	0,504	2,315	69,460	144,710	0,522	2,393	71,804	149,592
0,191	0,512	2,680	80,426	167,555	0,520	2,725	81,763	170,340

Phänotyp BC. (1. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gHb·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30Min
0,157	0,6065	3,8631	115,8938	241,445	0,6040	3,8476	115,4289	240,4769
0,193	0,6616	3,4282	102,8468	214,264	0,6462	3,3484	100,4521	209,275
0,175	0,634	3,6333	108,6992	226,4567	0,6357	3,6325	108,9773	227,0360
0,192	0,7703	4,0119	120,3595	250,749	0,6827	3,5559	106,6766	222,2428
0,23	0,87	3,7827	113,482	236,422	0,8295	3,606466	108,1946	225,4054
0,21	0,7394	3,5213	105,641	220,086	0,7378	3,5136	105,4096	219,603
0,22	0,762	3,4645	103,935	216,5318	0,7532	3,4239	102,719	213,998
0,22	0,7314	3,324	99,7336	207,778	0,7014	3,1880	95,6425	199,255
0,175	0,6778	3,8735	116,205	242,094	0,6559	3,7484	112,452	234,276
0,24	0,8935	3,723	111,694	232,695	0,8757	3,6487	109,4637	228,049
0,208	0,7557	3,6332	108,996	227,075	0,7175	3,4499	103,4994	215,6237
0,189	0,6989	3,6981	110,944	231,133	0,6194	3,2777	98,330	204,855
0,18	0,7314	4,063	121,896	253,951	0,6421	3,567	107,031	222,982
0,193	0,688	3,5668	107,0	222,929	0,6049	3,1341	94,02	195,884
0,203	0,7135	3,515	105,45	219,687	0,686	3,379	101,375	211,2
0,171	0,6421	3,7555	112,665	234,718	0,6146	3,5942	107,828	224,641
0,163	0,61	3,7806	113,418	236,289	0,599	3,676	110,285	229,76
0,186	0,7346	3,9496	118,487	246,849	0,6932	3,7273	111,818	232,954
0,192	0,6487	3,3785	101,355	211,156	0,6146	3,201	96,03	200,071
0,167	0,7095	4,2484	127,45	265,52	0,714	4,273	128,18	267,044
0,173	0,646	3,736	112,09	233,527	0,6487	3,7495	112,486	234,3475
0,188	0,6965	3,705	111,1458	231,554	0,7014	3,7307	111,922	233,171
0,192	0,7378	3,843	115,292	240,19	0,779	4,058	121,75	253,65
0,185	0,750	4,059	121,75	253,66	0,77	4,164	124,9	260,23
0,161	0,664	4,1257	123,7	257,858	0,705	4,6594	139,782	291,212
0,1541	0,705	4,5777	137,333	286,110	0,6811	4,4199	132,5973	276,244
0,252	0,94867	3,7646	112,939	235,2891	0,948686	3,7646	112,939	235,289
0,1918	0,770	4,0161	120,485	251,010	0,7277	3,794	113,827	237,1389
0,2011	0,7581	3,7699	113,098	235,62	0,750	3,729	111,883	233,09
0,1997	0,7433	3,733	112,003	233,34	0,7135	3,573	107,192	223,317
0,206	0,8108	3,8796	116,3889	242,4769	0,7946	3,820	114,609	238,798
0,2007	0,73705	3,672426	110,173	229,527	0,7184	3,5795	107,385	223,719
0,2114	0,7654	3,62079	108,624	226,299	0,7297	3,452	103,56	215,752
0,2365	0,8344	3,5279	105,838	220,496	0,7889	3,3359	100,078	208,496
0,2115	0,823	3,891	116,738	243,205	0,784	3,7072	111,217	231,704
0,1961	0,7395	3,7709	113,129	235,686	0,708	3,614	108,416	225,86
0,1649	0,6357	3,8551	115,652	240,941	0,6438	3,904	117,127	244,014
0,2043	0,8124	3,9768	119,304	248,551	0,7784	3,810	114,303	238,132
0,186	0,7540	4,0542	121,626	253,388	0,702	3,775	113,256	235,950
0,1964	0,762	3,880	116,424	242,550	0,719	3,662	108,860	228,875
0,1584	0,556	3,5116	105,348	219,475	0,543	3,4297	102,891	214,356
0,181	0,591	3,270	98,107	204,390	0,604	3,337	100,1234	208,590
0,1682	0,6989	4,1554	124,6635	259,7156	0,673	4,001	120,0356	250,0743
0,18186	0,7475	4,1108	123,325	256,927	0,737	4,0528	121,586	253,304
0,179	0,6357	3,5514	106,542	221,962	0,6267	3,5015	105,047	218,848
0,175	0,6486	3,7067	111,201	231,669	0,64218	3,6696	110,089	229,352
0,121	0,4686	3,873	116,198	242,08	0,4662	3,8531	115,595	240,823
0,2291	0,859	3,751	112,548	234,475	0,78246	3,4153	102,446	213,461
0,197	0,7184	3,6467	109,402	227,92	0,6859	3,482	104,46	217,631
0,158	0,5635	3,5666	107,00	222,9176	0,5505	3,4845	104,537	217,785
0,217	0,742	3,4227	102,681	213,920	0,7062	3,254	97,637	203,411

Phänotyp. EC. (2. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gH·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30 Min
0,128	0,460	3,59811	107,94	224,882	0,471	3,680	110,414	230,029
0,1657	0,6327	3,81825	114,5477	238,640	0,627	3,7839	113,5197	236,499
0,2069	0,7559	3,6538	109,615	228,3645	0,7852	3,7949	113,8490	237,185

Phänotyp AG. (1. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gH·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30Min
0,249	0,90409	3,6308	108,9264	226,930	0,90409	3,6309	108,926	226,930
0,1577	0,5822	3,6917	110,752	230,732	0,5461	3,463	103,888	216,433
0,177	0,6255	3,5342	105,027	220,8915	0,5765	3,2571	97,713	203,569
0,2179	0,642	2,949	88,4708	184,314	0,6527	2,9955	81,866	187,221
0,224	0,643	2,872	86,1702	179,521	0,675	3,0117	90,351	188,231
0,1594	0,455	2,856	85,687	178,516	0,5007	3,1411	94,234	196,32
0,206	0,7411	3,5976	107,928	224,851	0,7305	3,546	106,393	221,653
0,1341	0,4524	3,3739	101,219	210,873	0,4410	3,289	98,6798	205,58
0,1703	0,539	3,166	94,987	197,89	0,5432	3,190	95,70	199,3778
0,1783	0,640	3,592	107,778	224,559	0,602456	3,378	101,367	211,180
0,1682	0,6519	3,875	116,275	242,24	0,617	3,670	110,11	229,405
0,18902	0,6535	3,457	103,725	216,094	0,6113	3,2344	97,033	202,153
0,186	0,6875	3,6967	110,902	231,0466	0,6811	3,6618	109,8561	228,866
0,1693	0,6486	3,815	114,945	239,469	0,590	3,4866	104,600	217,917
0,1815	0,6754	3,721	111,641	232,586	0,607	3,3461	100,38	209,132
0,2130	0,71759	3,369	101,069	210,562	0,710298	3,335	100,042	208,421
0,1718	0,644	3,7487	112,463	234,298	0,5394	3,1397	94,1917	196,233
0,1629	0,549	3,375	101,279	210,9998	0,5677	3,4855	104,566	217,846
0,1887	0,6399	3,392	101,7465	211,972	0,627	3,323	99,683	207,673
0,1325	0,4274	3,226	97,785	201,635	0,425	3,207	96,234	200,488
0,1469	0,483	3,290	98,728	205,682	0,47	3,203	96,0772	200,1608
0,195	0,625	3,2071	96,213	200,444	0,621	3,186	95,589	199,144
0,185	0,569	3,0779	92,338	192,370	0,5548	2,999	89,970	187,437
0,197	0,556	2,8235	84,706	176,471	0,5448	2,7659	82,977	172,869
0,197	0,6357	3,2269	69,8072	201,6817	0,6259	3,177	95,3255	198,594
0,192	0,5335	2,7788	83,3648	173,6767	0,5051	2,631	78,93	164,438
0,165	0,5732	3,4743	104,23	217,146	0,5246	3,179	95,384	198,7177
0,207	0,6584	3,1807	95,421	198,793	0,6575	3,1767	95,3034	198,5488
0,196	0,6802	3,4709	104,127	216,931	0,6608	3,3716	101,148	210,706
0,2	0,6486	3,2433	97,301	202,71	0,6486	3,2433	97,301	202,71
0,2	0,7913	3,9569	118,707	247,307	0,7216	3,6082	108,247	225,515
0,216	0,7703	3,5662	106,986	222,888	0,6802	3,1495	94,4856	196,8451
0,203	0,6600	3,251	97,54	203,209	0,622	3,063	91,908	191,476
0,213	0,7175	3,369	101,07	210,56	0,7103	3,3347	100,042	208,420
0,189	0,647	3,423	102,706	213,972	0,646	3,419	102,578	213,704
0,198	0,580	2,932	87,964	183,258	0,584	2,948	88,456	184,283
0,115	0,3949	3,434	103,01	214,609	0,373	3,243	97,301	202,71
0,17	0,6195	3,644	109,32	227,751	0,56	3,2958	98,87	205,99
0,172	0,549	3,196	95,887	199,76	0,504	2,932	87,9669	183,264
0,19	0,6738	3,55	106,39	221,648	0,665	3,499	104,983	218,714
0,174	0,608	3,495	104,85	218,438	0,634	3,644	109,324	227,758
0,178	0,564	3,17	95,115	198,156	0,563	3,1659	94,9779	197,87
0,196	0,542	3,2097	96,293	200,6116	0,574	2,928	87,868	183,060
0,209	0,559	2,677	80,308	167,309	0,592	2,832	84,964	177,008
0,175	0,584	3,336	100,08	208,503	0,646	3,693	110,78	230,800
0,1978	0,8989	4,5445	136,335	284,0309	0,883	4,464	133,92	279,009
0,1903	0,595	3,130	93,900	195,627	0,588	3,089	92,674	193,0704
0,1519	0,669	4,4049	132,147	275,307	0,579	3,817	114,500	238,542
0,1598	0,669	4,187	125,615	261,697	0,576	3,602	108,078	225,164
0,1896	0,706	3,725	111,747	232,807	0,663	3,498	101,948	218,641
0,215	0,745	3,4658	103,976	216,617	0,7297	3,3942	101,8268	212,139

Phänotyp AC. (2. Teil)

gHb/ml	25° pH 5,4 U/ml·Min	25° pH 5,4 U/gHb·Min	25° pH 5,4 U/gHb·30 Min	37° pH 5,4 U/gHb·30 Min	25° pH 6,0 U/ml·Min	25° pH 6,0 U/gHb·Min	25° pH 6,0 U/gHb·30 Min	37° pH 6,0 U/gHb·30Min
0,158	0,4621	2,925	87,755	182,824	0,452	2,8636	85,9082	178,9754
0,1713	0,718	4,184	125,531	261,52	0,772	4,506	135,188	281,641

Diskussion.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Aktivität der Phänotypen der sauren Erythrozytenphosphatase untersucht, was für die selteneren Typen zum ersten Mal in genügend großer Anzahl für eine statistisch signifikante Aussage geschah. (s. Anzahl der Versuche in Tabelle II) Zur weiteren Unterstützung der statistischen Signifikanz wurden Vorversuche zur Bestimmung der methodischen Fehlerbreite durchgeführt. (s. Tabelle I.) Durch Untersuchungen zur Enzymkinetik und pH-Abhängigkeit des Enzyms wurden die geeignetsten Versuchsbedingungen festgestellt, welche von den bisher üblichen abweichen. Durch Senkung der Versuchstemperatur auf 25° C konnte auch über 70 Min. absolute Linearität der Reaktion erreicht werden. Mit der so möglichen Verdopplung der Versuchszeit konnte der methodische Fehler um 50 % gesenkt werden. Gleichzeitig wurde so im Hinblick auf die unterschiedliche Temperaturempfindlichkeit der Isozyme (s. Luffman u. Harris 67) die Benachteiligung einzelner Isozyme vermieden. Weiterhin wurde hier auf die übliche Anwendung von Antikoagulantien verzichtet, weil sie zwar die Arbeit mit dem Hämolysat erleichtern, dabei aber eine Wirkung auf die leicht beeinflussbaren A-Isozyme nicht ausgeschlossen werden kann. Die Eignung von gHg/ml als Bezugsgröße wurde ebenfalls durch Bestimmung der Korrelation zwischen gHg/ml und Aktivität bei pH 5,4 untersucht. Sie war wesentlich besser als die Korrelation der Aktivitäten eines Phänotyps bei pH 5,4 und 6,0. Hier konnten die Abweichungen von der Regressionsgeraden als alterungsbedingte Veränderungen erklärt werden.

Wie bei Spencer et al. (64) entsprach die Aktivität des heterozygoten Typs AB den addierten halben Aktivitäten der Typen A und B. Diese Addierung der Aktivitätseigenschaften fand sich erstmals signifikant bei den heterozygoten Typen AC und BC.

In Bezug auf die Aktivität addieren sich also die Eigenschaften der Genprodukte von P^A , P^B und P^C . Daß es berechtigt ist, mit halben Aktivitäten zu rechnen ergibt sich auch daraus, daß sich beim Vorkommen des "stillen" Allels P^O die halbe Aktivität des entsprechenden Typs findet. (Herbich et al. (70) und hier S. 52)

Bei anderen Eigenschaften, nämlich bei der pH-abhängigen oder altersbedingten Aktivitätsänderung findet sich diese Addierung der Eigenschaften bei den heterozygoten Typen nicht. Ausnahme war die pH-Abhängigkeit beim Typ AB. (s.S. 46) Aber auch hier ist eine nur zufällige Übereinstimmung nicht auszuschließen.

Ein unerwarteter und bisher unbekannter Befund war, daß beim Typ A mit der Alterung eine deutliche Steigerung der Aktivität beobachtet wurde. (s. Abb. 4) Die naheliegendste Deutungsmöglichkeit wäre die Annahme einer Hemmreaktion, welche die alterungsbedingte Abnahme der eigentlichen Enzymreaktion kompensiert, bzw. überkompensiert. Hierbei ist dann auch zu bedenken, daß das physiologische Substrat der sauren Erythrozyten phosphatase unbekannt ist und daß Substrate mit ähnlicher Molekülgröße wie p-NPP auf Enzyme kompetitiv hemmend wirken können. Es ist überhaupt fraglich, ob unter physiologischen Bedingungen Aktivitätsunterschiede vorhanden sind, bzw. wie diese Unterschiede kompensiert werden.

Bisher sind primär pathologische Zustände, z.B. in Zusammenhang mit P^O nicht bekannt.

Das von Spencer et al. (64) angegebene Verhältnis der Aktivitäten von 2:3:4 für P^A : P^B : P^C dürfte nach den hier gefundenen Werten auf Besonderheiten seiner Methode beruhen. Aus den Diagrammen der Abbildung 8 ergibt sich, daß die pH-bedingten Änderungen der Aktivität in verschiedene Richtungen laufen und sich dadurch die Aktivitätsverhältnisse zwischen den Phänotypen erheblich ändern können. Bei pH 5,4 findet sich das von Spencer et al. angegebene Verhältnis nicht mehr. Damit ist auch die von ihnen aufgestellte Theorie, daß es sich bei den verschiedenen Phänotypen um unterschiedliche Grade der Polymerisierung einer Basiseinheit handelt, fraglich geworden.

Bisher ist das Molekulargewicht nicht sicher bekannt und damit die Berechnung der Wechselzahl, also auch eine Aussage zur Gen-Dosis-Beziehung nicht möglich. Man weiß nur, daß das MG für alle Typen gleich ist, was ebenfalls der Polymerisierungstheorie von Spencer et al. widerspricht.

Wenn man bedenkt, daß jedem Phänotyp mehrere Isozyme entsprechen, deren Eigenschaften sich unabhängig von einander verändern, wie sie hier in Bezug auf Alterung und pH- Abhängigkeit gefunden wurde, so ist verständlich, daß sie sich nicht in ein so einfaches System einordnen lassen. Auch die weite Streuung der Aktivitätswerte kann so erklärt werden.

Zusammenfassung

Als Aufgabe wurde die Aufstellung und statistische Prüfung einer Standardmethode zur Messung der Aktivität der "sauren Erythrozytenphosphatase" gestellt.

Nach einem Überblick über die bisher bekannten Eigenschaften und Daten der sauren Erythrozytenphosphatase (EC 3.1.3.2.) werden Vorversuche zur Kinetik und über das Verhalten des Enzyms unter verschiedenen Temperatur- und pH-Bedingungen und nach Alterung sowie eine Bestimmung der Fehlerbreite der vorgesehenen Versuchsreihen beschrieben. Jeweils bei pH 5,4 und 6,0 wurden Aktivitätsbestimmungen aller 6 Phänotypen durchgeführt und statistisch ausgewertet. Es fanden sich angenäherte Normalverteilungen, wobei sich die einzelnen Verteilungskurven weit überlappten. Die Mittelwerte zeigt nachstehende Tabelle.

(a=arithmetischer Mittelwert,

b= aus dem Wahrscheinlichkeitsnetz entnommen)

AA (n=94)	BB (n=93)	AB (n=102)	BC (n=54)	AC (n=53)	CC (n=8)	
2,23	2,998	2,653	3,765	3,424	4,57	a
2,19	2,90	2,55	3,70	3,3	---	b pH 5,4
2,18	3,103	2,678	3,664	3,315	4,35	a
2,13	2,99	2,61	3,56	3,20	---	b pH 6,0

Aus der Korrelation der Werte bei pH 5,4 und 6,0 ist zu entnehmen, daß in beiden pH Bereichen die Aktivität desselben Enzyms bestimmt wurde. Die teilweise großen Abweichungen von der Regressionsgeraden konnten als alterungsbedingte Veränderungen erklärt werden.

Weiterhin wurde die Relation der üblichen Bezugsgröße Hb/Vol zur Aktivität/Vol überprüft, wobei sich eine der direkten Proportionalität nahekommende Beziehung ergab. (Korrelationskoeffizient 0,87)

L i t e r a t u r

- Abul-Fadl, M.A.M. und King; E.J. (1949)
Properties of the acid phosphatases of erythrocytes and of the human prostate gland.
Biochem. J. 45, 51.
- Angletti, P.U. u. Gayle, R. (1962)
Chromatography of red cell hemolysates.
Blood 20, 51.
- Behrend, H. (1943)
Phosphatase activity of human erythrocytes.
Proc. Soc. exp. Biol. Med. 54, 268.
- Behrend, H. (1949)
Phosphatases in blood of man.
Values in whole blood, plasma, cytolysates and erythrocyte suspensions.
Am. J. clin. Path. 19, 167.
- Bergmeyer, H.U. (1970)
Methoden der enzymatischen Analyse.
Verlag Chemie, Weinheim/ Bergstr.
- Bottini, E. und Modiano, G. (1964)
Effects of oxidized glutathion on human red cell acid phosphatase.
Biochem. biophys. Res. Commun. 17, 260.
- Chandanayingyong, D., Sasaki, T.T.
Greenwalt, T.J. (1967)
Blood groups of the Thais.
Transfusion 7, 269.
- van Cong, N. (1974) und Moullec, J. (1971)
Linkage probable entre les groupes de phosphatase acide des globules rouges et le système Lewis.
Ann. Génét. 14, 121.
- Coneally, P.M., Nevo, S., Cleghorn, T.E., Harris, H., Hopkinson, D.A., Robson, E.B., Spencer, N. und Steinberg, A.G. (1965)
Linkage studies with the human red blood cell acid phosphatase Locus and blood group, Hp, Gm and Inv Loci.
Am. J. hum. Genet. 17, 109.

Dürwald, W. und Hunter, H. (1967)

Populationsgenetische und formalgenetische Untersuchungen zum Polymorphismus der sauren Erythrocytenphosphatase.

Dtsch. Gesundh.-Wes. 22,2368.

Fenton, M. R. und Richardson, K.E. (1967)

Isolation of three acid phosphatase isozymes from human erythrocytes.

Archs. Biochem. Biophys. 120, 332.

Fiedler, H. (1967)

Das Isozymsystem der sauren Erythrocytenphosphatasen und seine Anwendung in der forensischen Vaterschaftsbegutachtung.

Ärztl. Lab. 13, 507.

Fisher, R.A., Harris, H., Houldsworth, M., Lilly, M.D. und Dunnill, P. (1968)

Large-scale isolation of acid phosphatase from human erythrocytes. Biotechnol. Bioeng. 10, 829.

Fisher, R. A. und Harris, H. (1971)

Studies on the separate isozymes of red cell acid phosphatase phenotypes A and B. I. Chromatographic separation of the isozymes.

Ann. Hum. Genet., Lond., 34,431.

Fisher, R. A. und Harris, H. (1971)

Studies on the separate isozymes of red cell acid phosphatase phenotypes A and B. II. Comparison of kinetics and stabilities of the isozymes.

Ann. Hum. Genet., Lond., 34,439.

Fisher, R. A. und Harris, H. (1971)

Further studies on the molecular size of red cell acid phosphatase. Ann. Hum. Genet., Lond., 34,449.

Fuhrmann, W. und Lichte, K. H. (1966)

Human red cell acid phosphatase polymorphism.

Humangenetik 3, 121.

Georgatsos, J. G. (1965)

Acid phosphatase of human erythrocytes.

Archs. Biochem. Biophys. 110, 354.

Giblett, E. R. und Scott, N. M. (1965)

Red cell acid phosphatase: racial distribution and report of a new phenotype.

Am. J. hum. Genet. 17, 425.

Giblett, E. R. (1969)

Genetic markers in human blood.

Blackwell scientific publications. Oxford and Edinburgh.

Goedde, H. W., Ritter, H., Callsen, U., Flock, H. (1966)

Untersuchungen zum Polymorphismus der sauren Erythrocyten-phosphatasen (EC 3.1.3.2.)

Humangenetik 3, 113.

Gußmann, St. (1969)

Apparatur zur Darstellung der Enzym polymorphismen.

(Vergrößerung und Verbesserung des Gerätes von Radam und Strauch)

Ärztl. Lab. 15, 333.

Gußmann, St. (1970)

Beitrag zur Differentialdiagnose des Typs C der sauren Phosphatase der Erythrocyten des Menschen. (EC 3.1.3.2.)

Z. Rechtsmedizin 67, 227.

Harris, H. (1966)

Enzyme polymorphisms in man.

Proc. roy. Soc. B. 164, 298.

Herbich, J., Fisher, R. A. und Hopkinson, D. A. (1970)

Atypical segregation of human red cell acid phosphatase phenotypes : evidence for a rare " silent " allele P⁰.

Ann. Hum. Genet., Lond. 34, 145.

Hopkinson, D. A. und Harris, H. (1967)

Column chromatography of human red cell acid phosphatase.

Ann. Hum. Genet., Lond. 31, 29.

- Hopkinson, D. A., Spencer, W. und Harris, H. (1964)
Genetical studies on human red cell acid phosphatase.
Am. J. hum. Genet. 16, 141.
- Karp, G. W. und Sutton, H. E. (1967)
Some new phenotypes of human red cell acid phosphatase.
Am. J. hum. Genet. 19, 54.
- Kreyszig, E. (1967)
Statistische Methoden und ihre Anwendungen.
Verl. Vandenhoeck und Ruprecht, Göttingen.
- Krüger, J., Fuhrmann, W., Lichte, K-H. und Steffens, Chr. (1968)
Zur Verwendung des Polymorphismus der sauren Erythrocytenphosphatase bei der Vaterschaftsbegutachtung.
Dtsch. Z. Ges. gerichtl. Med. 64, 127.
- Lai, L., Nevo, S. und Steinberg, A. G. (1964)
Acid phosphatases of human red cells : predicted phenotypes conforms to a genetic hypothesis.
Science 145, 1187.
- Lowry, O. H. (1946)
zitiert in:
Methods in enzymology Vol 3. 845.
Academic Press, New York.
- Lowry, O. H., Roseborough, N. J., Farr, A.L. und Randall, R.J. (1951)
Protein measurement with the Folin phenol reagent.
J. Biol. Chem. 193, 265.
- Luffman, J. E. und Harris, H. (1967)
A comparison of some properties of human red cell acid phosphatase in different phenotypes.
Ann. hum. Genet. 30, 387.
- McAlpine, P.J., Hopkinson, D.A. und Harris, H. (1970)
Thermostability studies on the isozymes of human phosphoglucomutase.
Ann. Hum. Genet., Lond. 34, 61.

- Modiano, J., Filippi, G., Trunelli, F., Frattaroli, W. und Siniscalco, M. (1967)
Studies on red cell acid-phosphatases in Sardinia and Rome. Absence of correlation with past malarial morbidity. Acta genet. 17, 17.
- Oski, F. A., Shahidi, M. T. und Diamond, L. K. (1963)
Erythrocyte acid phosphomonoesterase and glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency in Caucasians. Science 139, 409.
- Prokop, O. (1967)
Die Phosphatasegruppen bei 871 Mutter-Kind-Paaren. Berichtsheft 5 der Tagung der Arbeitsgem. d. Blutgruppensachverst. 7. S. 22.
- Radam, G. und Strauch, H. (1966)
Populationsgenetik der sauren Erythrocytenphosphatase. Humangenetik 2, 378.
- Radam, G. und Strauch, H. (1966)
Elektrophoretische Darstellung der sauren Erythrocytenphosphatase. Z. Klin. Chem. 4, 234.
- Schwarzfischer, F., Ziegelmayer, G. und Liebrich, K. (1963)
Zur Verwendbarkeit des Systems Gc im erbbiologischen Gutachten. Anthrop. Anz. 26, 207.
- Scott, E. M. (1966)
Kinetic comparison of genetically different acid phosphatases of human erythrocytes. J. biol. Chem. 241, 3049.
- Soerensen, S. A. (1970)
Red cell acid phosphatase, phenolphthalein diphosphate, and 8-Naphthylphosphate : variation in substrate specificity. Clinical Genetics 1, 294.
- Speiser, P. und Fausch, V. (1967)
The distribution of red cell acid phosphatase variants in Vienna. Vox Sang. 13, 12.

- Spencer, M., Hopkinson, D. A. und Harris, H. (1964)
Quantitative differences and gene dosage in the human
red cell acid phosphatase polymorphism.
Nature 201, 299.
- Weber, H. und Wegmann, T. (1968)
Atlas der klinischen Enzymologie.
Thieme Verlag, Stuttgart.
- Willè, B., Bender, K., Wolf, U. und Ritter, H. (1968)
Zur Populationsgenetik der sauren Phosphatase der Erythrocyten (EC 3.1.3.2.) Phänotypen- und Allelhäufigkeiten in Südwestdeutschland.
Humangenetik 5, 274 .
- Tsuboi, K.K. und Hudson, P. B. (1953)
Acid phosphatase. I. Human red cell phosphomonoesterase; general properties.
Archs Biochem. Biophys. 43, 339.
- Tsuboi, K. K. und Hudson, P. B. (1954)
Acid phosphatase. II. Purification of human red cell phosphomonoesterase.
Archs Biochem. Biophys. 53, 341.
- Tsuboi, K. K. und Hudson, P. B. (1955)
Acid phosphatase. V. The nature of inactivation und stabilisation of purified human red cell phosphomonoesterase.
Archs Biochem. Biophys. 55, 206.
- Tsuboi, K. K. und Hudson, P. B. (1956)
Acid phosphatase. VI. Kinetic properties of purified yeast and red cell phosphomonoesterase.
Archs Biochem. Biophys. 61, 197.
- Valentine, W. N., Tanaka, K.R. und Fredrichs, R. E. (1961)
Erythrocyte acid phosphatase in health and disease.
Am. J. clin. Path. 36, 328.
- Yunis, J. R. (1969)
Biochemical methods in red cell genetics.
Academic Press. New-York-London.

Herrn Professor Dr.Dr. F. Schwarzfischer möchte ich für die Aufgabenstellung und Bereitstellung von Arbeitsplatz und -Material sowie für persönliche Anteilnahme und Rat herzlich danken.

Herrn Dr.Dr. St. Gußmann und Fräulein U. Hamm bin ich für technische Unterstützung zu Dank verpflichtet.

Herrn Dipl. Mathematiker J. Schmidt danke ich besonders für seine freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Lebenslauf.

Am 18.11.39 wurde ich in Wiesbaden als Sohn des Dr. phil. Dr. med. Anton Berg und seiner Ehefrau Juliane, geb. Freiin Langwerth von Simmern geboren. Nach dem Besuch der Volksschule und des Kollegs St. Blasien legte ich 1962 in der Rheingauschule Geisenheim das Abitur ab.

Von 1962-66 studierte ich an der Universität Mainz Medizin. Nach nicht bestandenem Physikum brach ich das Studium ab und arbeitete als Laborant und Krankenpfleger, zuletzt 1968 in Vietnam, wo ich die Ärztin Dr. med. Ortrud Rossbach heiratete.

1969 habe ich mich an der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München eingeschrieben und studiere mit dem Ziel der Promotion in Anthropologie und Humangenetik.

